Aus der I. Inneren Abteilung des
Städtischen Krankenhauses Berlin-Neukölln
Chefarzt: Professor Dr. med. Klaus Holldack

DIE WIRKUNG VON THIAMINPYROPHOSPHAT AUF DIE PROLIFERATION VON PATHOLOGISCHEM KNOCHENMARK

INAUGURAL-DISSERTATION
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

1970

vorgelegt von
Barbara Steinbrück geb. Schulz
aus Prenzlau/Uckermark

Aus der I. Inneren Abteilung des Städtischen Krankenhauses
Berlin-Neukölln
Chefarzt: Professor Dr. med. Klaus H o l l d a c k

Die Wirkung von Thiaminpyrophosphat auf die Proliferation von pathologischem Knochenmark

Inaugural - Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an der
Medizinischen Fakultät der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Barbara Steinbrück geb. Schulz
aus Prenzlau/Uckermark

Dekan: Professor Dr. med. H. L a x

Referent: Professor Dr. med. Irene B o l l

Korreferent: Professor Dr. med. Horst B r ü c h e r

UNIV.
LEIDEN
BIBL.

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Freien Universität Berlin.

Promoviert am: 28. Mai 1970

Meiner lieben Mutter
in Dankbarkeit gewidmet

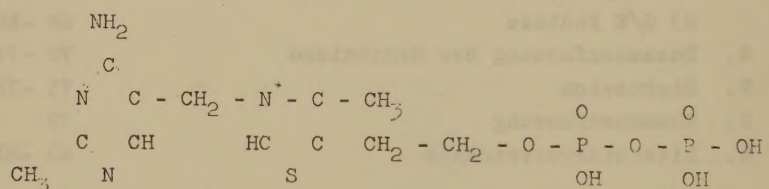
Inhaltsübersicht

		Seite
A.	Literaturübersicht	I - 5
B.	Methode	6 - 9
C.	Klinische Charakteristika der für die Untersuchung verwendeten Knochenmarkproben	I0 -I7
D.	Ergebnisse	
	a) Reifungskurven	I8 -62
	b) Mitoseindices	63 -65
	c) Karyologische Kurven	66 -67
	d) G/E Indices	68 -69
E.	Zusammenfassung der Ergebnisse	70 -74
F.	Diskussion	75 -78
G.	Zusammenfassung	79
H.	Literaturverzeichnis	80 -8I

A. Literaturüberblick

L o h m a n n und S c h u s t e r (cit. nach B e r n d t(3)) entdeckten 1937 die funktionelle Rolle des Thiamins als Bestandteil der Cocarboxylase. Kurz zuvor war Thiamin (Vit B_1) von J a n s e n aus Bierhefe isoliert und von W i n d a u s und W i l l i a m s in seiner Struktur aufgeklärt worden:

Thiamin besteht aus einem heterocyclischen Fünferring, dem Thiazolring und einem Pyrimidinring, die über eine Methylengruppe miteinander verbunden sind. Durch Veresterung mit Pyrophosphat entsteht Thiaminpyrophosphat (TPP), das Enzym Cocarboxylase. TPP ist die aktive Form des Vit B_1 in den Geweben.



Cocarboxylase bildet die prosthetische Gruppe der Enzyme, die die oxydative Decarboxylierung der -Ketonsäuren ermöglichen. Besonders der oxydativen Decarboxylierung von Pyruvat zu Acetyl-Co A kommt als Zwischen- und Abbauprodukt des Aminosäure-, Fett- und Kohlehydratstoffwechsels eine Schlüsselstellung im Gesamtstoffwechsel zu. Im Pentosephosphatzyklus ist TPP das Coenzym der Transketolase. Die Cocarboxylase verhindert den Anstau von Pyruvat und Brenztraubensäurealdehyd, die beide für den Organismus toxisch sind. (9).

Die Durchsicht der Literatur ergab, daß die Wirkung von TPP auf die Blutbildung noch niemals untersucht wurde. Die Mitteilungen beschränken sich auf Angaben, die

1) den Gehalt von TPP im peripheren Blut (Geigy[11]),
2) die Standortbestimmung von TPP in den Geweben (B a l a g h i [2]),
3) die Wirkung von TPP auf das Wachstum von Geweben in vitro (L a s f a r g u e s [15]),
4) die Frage, ob TPP-Zusatz in der Lage ist, den Stoffwechsel thaminnegativer Gewebe zu normalisieren (B a l a g h i [2], B r i n [9,10], G r a s s m a n n [12], K i e s s l i n g [14]),

betreffen.

ad 1

Das periphere Blut enthält je 100 ml etwa 3,5 - 11,5 /ug TPP in den korpuskulären Elementen und bis 1,3 /ug freies Vitamin im Plasma. Der Cocarboxylasegehalt der Leukozyten beträgt das Zehnfache desjenigen der Erythrozyten. Außerdem ist er bei Männern in den Erythrozyten wesentlich höher als bei Frauen. (11).

ad 2

Mit Hilfe von C_{14} markiertem Thiamin gelang es B a l a g h i (2), die besonderen Standorte von Vit B_1 innerhalb der Zellfraktionen zu ermitteln. In allen Geweben haben Mitochondrien und lösliche Fraktion den höchsten Thiamingehalt (60 - 70 %). Erzeugt man akuten Vitaminmangel durch Injektion des Antivitamins Pyrithiamin, so zeigen sich elektronenmikroskopisch Veränderungen, die man bei Hypoxydosen zu sehen gewohnt ist. Es kommt zur Schwellung der Mitochondrien, zur bläschenförmigen Erweiterung des endoplasmatischen Retikulums und zur Abnahme der Ribosomen. (17).

ad 3

Daß TPP einen günstigen Effekt auf das Wachstum und die Aufrechterhaltung von Gewebekulturen hat, ist nach L a s f a r g u e s (15) anzunehmen. Im hängenden Tropfen und in Roll-Röhrchen wurde Geweben von Hühnerembryonen, die in einer"Earle'schen Lösung" mit Zusatz von CoA angesetzt waren, getrennt ATP, TPP und DPN zugeführt. Dabei zeigte sich ein klarer Effekt von ATP auf die zelluläre Vermehrung und den Mitoseanstieg. Analoge Effekte hat TPP, auch wenn dieses weniger begünstigend wirkt als ATP. Generalisierte Nekrosen erscheinen auf ATP nach 8 Wochen, während sie auf TPP-Zusatz nach 4 Wochen auftraten.

ad 4

Die Voraussetzung, daß Zusatz des Coenzyms TPP in vitro überhaupt einen Einfluß auf den Stoffwechsel von Geweben hat und in besonderem Fall den Stoffwechsel von eventuell thiaminnegativen Geweben normalisiert, ist das genügende Vorhandensein von Apoenzym. In TPP negativen Geweben hat ein Mangel an Coenzym primär eine Verminderung der entsprechenden Enzymaktivität zur Folge. Er kann aber auch sekundär die Bildung von Apoenzym erniedrigen (13).

B a l a g h i (2) beobachtete bei Thiaminentzug durch Antithiamin eine uniforme Abnahme des Thiamingehaltes in allen korpuskulären Elementen der Zelle, während in der solublen Phase kein Rückgang festzustellen war. Dies wurde so erklärt, daß entweder die in der solublen Phase vorherrschende Transketolase TPP mehr als andere Enzyme benötigt und bindet, oder daß sie selbst zurückgeht. Letzteres hält B a l a g h i für wahrscheinlicher und bezieht sich dabei auf die Beobachtungen von B r i n . Dieser zeigt, daß die Transketolaseaktivität in Rattengeweben, die unter Vit B_1 Mangel ernährt worden waren, nicht durch Zusatz von TPP wiederhergestellt

werden konnte. Ein Mangel an Apotransketolase besteht nach B r i n 's eigenen Beobachtungen jedoch zumindest im Erythrozytenstoffwechsel nicht. (9, 10) Der normale und auch der unter Thiaminmangel stehende Erythrozyt ist reich an unversorgter Apotransketolase. Setzt man dem Erythrozytenhämolysat TPP hinzu, so hat man durch Ermittlung der gebildeten Hexosen ein sicheres Maß, wieviel freies Apoenzym vorher vorlag bzw. wie groß der Thiaminmangel war. Bei jedem Erythrozytenhämolysat ist ein Anwachsen der Enzymaktivität unter TPP-Zusatz zu beobachten. Die gesteigerte Enzymaktivität wird mit Bezug auf die Originalaktivität in Prozent ausgedrückt und "TPP-Effekt" genannt. Dabei ist ein TPP-Effekt von 15 % noch als physiologisch zu werten, und erst ein Anstieg auf 40 % macht schwere klinische Symptome (10). Diese Bestimmung der Transketolaseaktivität der Erythrozyten gilt als spezifischstes und modernstes Kriterium für die Thiaminversorgung des Organismus.

G r a s s m a n n (12) schließlich schreibt, TPP-Zugabe in vitro normalisiere den O_2-Verbrauch thiaminnegativer Gewebe und reguliere den Pyruvatanfall.

Ein weiterer Befund, daß durch TPP-Zusatz in vitro der Stoffwechsel angeregt werden kann, sind die Ergebnisse von K i e s s l i n g (14). Einerseits stellt er fest, daß z.B. die Leber ausgewachsener Ratten einen solchen Überschuß an TPP enthält, daß eine Hemmung der Pyruvatoxydase erst auftritt, wenn sein Wert tiefer tritt als 20-25 % des Originalwertes. Träfe das auch für das Knochenmark zu, müßte ein Zusatz von TPP sinnlos erscheinen. Andererseits beobachtete er aber speziell bei schnellwachsenden Geweben, wie im Muskel- und Lebergewebe neugeborener Ratten, sowie im Tumorgewebe, bei Zusatz von TPP einen leichten Anstieg der Pyruvatoxydation.

Fragestellung

Da die Wirkung von TPP auf die Blutbildung bisher nicht untersucht wurde, soll diese Arbeit Aufschluß über die direkte Beeinflussung der Proliferationskinetik des Knochenmarks durch TPP geben. Um indirekte Beeinflussung und möglicherweise verschiedene Reaktionen bei verschiedenen Spezies auszuschließen, wurde die Untersuchung nicht am Versuchstier sondern an Knochenmarkkulturen vom Menschen durchgeführt.

Durch Darstellung der Mitoseindices, G/E Indices, von Reifungs- und karyologischen Kurven soll geprüft werden, ob die Proliferation- die Regeneration und Reifung- bei der Erythropoese bzw. der Granulopoese beim Menschen unter verschiedenen pathologischen Bedingungen durch TPP beeinflußt werden kann.

Dem Kulturmedium wurde die Konzentration von 0,1 mg% TPP zugesetzt, die derjenigen Sättigung im Organismus entspricht, von der wir wissen, daß sie beim Menschen einen therapeutischen Effekt hat (Fall 1-9). Den beiden letzten Punktaten (Fall 8, 9) wurde außerdem 0,01 mg% TPP zugesetzt, die Konzentration, die etwa der physiologischen im Blut entspricht. In jedem Fall wurden Kontrollkulturen ohne TPP-Zusatz parallel angesetzt.

Da in vitro nach B a l g h i (2), L a s f a r g u e s (15), B r i n (9) sowie G r a s s m a n n (12) Zellen anderer Gewebe gut TPP aufnehmen, kann man annehmen, daß TPP ebenso von Knochenmarkzellen in vitro aufgenommen wird.

In vivo reichert sich TPP besonders in den Leukozyten an, dringt aber auch in die Erythrozyten ein. Der Cocarboxylasegehalt der Leukozyten beträgt das zehnfache desjenigen der Erythrozyten. Beim Mann ist der Cocarboxylasegehalt der Erythrozyten wesentlich höher als bei der Frau.

B. Methode

Zur Überlebenderhaltung von menschlichem Knochenmark benutzen wir die Carrel'sche Methode, modifiziert nach Boll. Das Nativplasma des Patienten wird durch Absedimentieren in silikonisierten Röhrchen gewonnen. Das Eigenplasma wird mit Corhormon und Hank'scher Lösung gut vermischt. Die Mischung enthält 50 % Plasma um zu gerinnen. Corhormon ist als Wuchsstoff zu 10-30 % vorhanden (1 Tropfen Corhormon), Hank'sche Lösung zu ca. 40 % (4 Tropfen Hank'sche Lösung). Jeweils 1 Tropfen von dieser Mischung wird auf Objektträger aufgebracht und bildet ein Koagulum, auf das ein Knochenmarkbröckel gesetzt und mit Serum bedeckt wird. Ein hohlgeschliffener Objekttärger wird über den Tropfen gesetzt. Der Objektträger wird mit dem anhaftenden Objektträgerglas vorsichtig umgedreht und durch Paraffin luftdicht abgeschlossen. Der angesetzte Markbröckel wird so im hängenden Tropfen kultiviert. Beim Ansetzen der Kulturen wird auf Sterilität geachtet. Die Deckglaskulturen sind mit verschiedenen Zusätzen angelegt.

a) Kontrollkulturen ohne Zusatz
b) mit 0,1 mg % TPP im Koagulum und im Serum
c) mit 0,01 mg % TPP im Koagulum und im Serum
Als TPP-Zusatz benutzen wir die Verdünnung des Präparates "Berolase"von Roche.

Bei 37 Grad Celsius im Brutschrank inkubiert, werden von den Kulturen nach 24, 48, 72 Stunden je 3 Ausstriche angefertigt, luftgetrocknet und mit May-Grünwald und Giemsa nach Pappenheim gefärbt. Außerdem ist jeweils ein Originalausstrich des Sternalpunktates angefertigt worden. Von dem besten der 3 Ausstriche wurden mindestens 1000 Zellen in meanderförmiger Zählweise ausgewertet.

Die rote Reihe wird differenziert in:

Proerythroblasten
basophile Erythroblasten
polychromatische Erythroblasten
reife Erythroblasten

wobei die Proerythroblasten und alle Erythroblasten bis auf die reifen als teilungsfähig angesehen werden.
Und die weiße Reihe in:

Myeloblasten
Promyelozyten
neutrophile Myelozyten
eosinophile Myelozyten
basophile Myelozyten
Metamyelozyten (neutrophile jugendliche Granulozyten)
neutrophile stabkernige Granulozyten
neutrophile segmentkernige Granulozyten
basophile segmentkernige Granulozyten

wobei Myeloblasten, Promyelozyten, Myelozyten und Metamyelozyten zu den teilungsfähigen Zellen gerechnet werden.

In der Auswertung werden alle Granulationsarten der Myelozyten und Granulozyten zusammengefaßt, weil die Zahlen der eosinophilen und basophilen zu klein waren.

Die Stammzelle und damit größte Zelle in der Erythropoese ist der Proerythroblast. Der runde Kern zeigt ein dichtes, feinnetziges Chromatingerüst. Das ihn gleichmäßig umgebende Zytoplasma ist kornblumenblau, zeigt oft Aufhellungszonen und Plasmaausstülpungen.

Der Zelldurchmesser des basophilen Erythroblasten ist wesentlich kleiner. Der Kern ist rund und zeigt ein grobgefeldertes Chromatingerüst (helle Furchen zwischen dunkelvioletten Chromatinschollen). Sein Zytoplasma ist dunkelblau.

Der Kern des polychromatischen Erythroblasten zeigt meist eine gleiche, manchmal geringere Innenstruktur wie der basophile Erythroblast. Das Zytoplasma hat eine Mischfarbe von grau-blau-violett, die je nach der Hämoglobinisierung mehr rötliche oder blaue Farbtöne annimmt.

Die Kernstruktur des oxyphilen Erythroblasten ist verdichtet. Sein Zytoplasma ist gelblich-rot.

Der reife Erythroblast besitzt einen homogenen, schwarz gefärbten Restkern, der oft exzentrisch liegt. Sein Zytoplasma entspricht dem polychromatischen oder oxyphilen Erythroblasten. Unabhängig von der Reifestufe des Zytoplasmas werden alle Zellen der roten Reihe mit pyknotischem, also nicht mehr teilungsfähigem Kern zu den reifen Erythroblasten gezählt.

Die jüngste Zelle der weißen Reihe ist der Myeloblast. Der Kern ist rund oder wenig oval. Die Kernstruktur ist weich "wie durch Milchglas gesehen". Der Kern enthält meist 2-3 deutlich sichtbare Nucleoli. Sein Zytoplasmasaum ist schmal (Kern-Plasma-Verhältnis 1:1,4), hellbasophil und ungranuliert.

Der Promyelozyt ist die größte Zelle der Granulopoese und wird deshalb auch als "Prolet im Knochenmark" bezeichnet. Die Größenzunahme erfolgt zu Gunsten des Zytoplasmas (Kern-Plasma-Relation 1:3). Auffallend ist die azurophile Granulation, die zum Teil sehr grobkörnig sein kann im mehr oder weniger basophilen Zytoplasma. Der Kern ist oval oder leicht eingebuchtet und stärker strukturiert als der Myeloblast. Nucleoli sind selten vorhanden.

Der Myelozyt besitzt keine azurophile Granulation. Das Zytoplasma des Neutrophilen ist hellgrau bis zartrosa, das der Eosinophilen und Basophilen besitzt seine spezifische Granulation. Die Zelle ist kleiner als der Promyelozyt. Der nierenförmige Kern zeigt ein grobscholliges Chromatingerüst. Nucleoli sind nicht mehr zu erkennen.

Der Metamyelozyt (jugendlicher neutrophiler Granulozyt) ist dem neutrophilen Myelozyten ähnlich, hat jedoch einen stärker geschwungenen Kern, dessen Chromatin locker strukturiert ist.

Beim stabkernigen Granulozyten ist die Kernstruktur kompakter, die Kerngestalt verschmälert und zu C- oder S-Formen geformt. Sie kann bereits Schnürfurchen besitzen; die Verbindungen sind

jedoch noch breiter als ein Drittel des Kernes. Das Zytoplasma gleicht dem neutrophilen Myelozyten.

Der segmentkernige Granulozyt besitzt fadenförmige Brücken im strukturlosen Kern, so daß meistens 3-4 Segmente gefunden werden. Der eosinophile und basophile Segmentkernige hat die typische Granulierung. Bei letzterer finden wir im allgemeinen nur zwei rundliche ovale Segmente.

Neben der Differenzierung der einzelnen Zellformen wurde besonderer Wert auf die Abgrenzung der verschiedenen Mitosephasen gelegt:

1. Prophase: sie ist dadurch charakterisiert, daß keine Nucleoli und Kernmembranen mehr vorhanden sind und die Chromosomenmasse im festen Spirem liegt.
2. Frühe Metaphase: die Chromosomen sind über die ganze Zelle verteilt: lockeres Spirem.
3. Späte Metaphase: die Chromosomen sind zur Äquatorialplatte bzw. zum Monaster angeordnet.
4. Anaphase: es bestehen 2 Äquatorialplatten in der noch runden oder ovalen Zelle: Diaster.
5. Telophase: das Zellplasma ist zur Taille eingeschnürt,und die Chromosomen bilden ein lockeres Dispirem.
6. Rekonstruktionsphase: durch die Zytoplasmateilung sind 2 neue Tochterzellen entstanden, die häufig noch durch ein feines Plasmafädchen miteinander verbunden sind. Ihre Kerne bilden jetzt ein festes Dispirem.

Aus den Zählungen wurden Reifungskurven, karyologische Kurven und Tabellen der Mitose-Indices getrennt für Erythropoese und Granulopoese sowie das Verhältnis beider zueinander, der G/E-Index, aufgestellt. Die Reifungskurven geben die prozentuale Verteilung der Zellformen wieder, während die karyologischen Kurven die Mitosenverteilung darstellen. Die Mitose-Indices werden in Promille ausgedrückt.

C. Klinische Charakteristika der für die Untersuchung verwendeten Knochenmark-Proben

In die Untersuchung wurden folgende Patienten aufgenommen:

Patient M, A (Fall 1 + 2)

Der Patient wurde innerhalb von 2 Monaten zweimal stationär aufgenommen und beide Male sternalpunktiert. Von beiden Sternalpunktaten wurden TPP-Zusatzkulturen angesetzt.

Alter: 71 Jahre
Diagnose: relative Lymphozytose
Knochenmark-Diagnose: Retikulose
Therapie bis zur Sternalpunktion:

a) 29.5.67
Lanicor 1 Tabl./tgl.
Cordalin
Mixt. Peps. 3x 1 Eßl.
Dociton 2x 1Tabl.

b) 12.6.67
siehe oben

Blutbild:

a) 26.5.67

Erythrozyten	5,29 Mill.
Hb	18,0 g%
Hb_E	33,5
Leukozyten	16 400
Bas	1 %
Eos	1 %
Stab	1 %
Segm	23 %
Lymph	65 %
Mono	0 %
Thrombozyten	13 000

AMZ z.T. lymphoblastisch 9 %
Gumprechtsche Schatten 12 %
vereinzelt Riesenthrombozyten

b) 5.6.67

Erythrozyten	5,29 Mill.
Hb	18,0 g%
Hb_E	33,5
Leukozyten	10 600
Stab	1 %
Segm	20 %
Lymph	70 %
Mono	0 %
AMZ z.T. lymphoblastisch	7 %
Gumprechtsche Schatten	8 %

Patient Sch, A (Fall 3)

Alter: 83 Jahre
Diagnose: Monozytose
Knochenmark-Diagnose: Monoblastenleukämie
Therapie bis zur Sternalpunktion (10.7.67):
Aristamid
Leukomycin
Scopolamin Salbe
Pilocarpin
Daluwal 1 Drg.

Blutbild (7.7.67):

Erythrozyten	5 Mill.
Hb	15,4 g%
Hb_E	30,5
Leukozyten	8 800
Bas	1 %
Eos	1 %
Stab	10 %
Segm	51 %
Lymph	20 %
Mono	14 %
3 AMZ	3 %
1 Riesenthrombozyt	

Patientin G, U (Fall 4)

Alter: 52 Jahre

Diagnose: Verdacht auf Systemerkrankung bei Epilepsie

Knochenmark-Diagnose: Lymphogranulomatose

Therapie bis zur Sternalpunktion (30.5.67):

Mylepsin 2 Tabl.
Sedozentral 3 Tabl.
Bephenal 1 Tabl.
Glyboral 1/2 Tabl.
Aristochol 3x 15 Tropfen

Blutbild (26.5.67):

Erythrozyten	5,27 Mill.
Hb	16,6 g%
Hb_E	31,5
Leukozyten	10 600
Bas	1 %
Prom	1 %
Meta	1 %
Stab.	13 %
Segm	68 %
Lymph	12 %
Mono	2 %
Thrombozyten	212 000
AMZ	4 %

1 plasmazelluläre Lymphoidzelle

Patient R, G (Fall 5)

Alter: 68 Jahre
Diagnose: Magencarcinom
Knochenmark-Diagnose: Plasmazellenvermehrung
Therapie bis zur Sternalpunktion (27.6.67):
Atosil 20 mg
Kalijodat 3x 1 Eßl.
Mixt. Pussin. 1 Eßl.
Koralysin 3x 1 Tabl.
Blutbild (19.6.67):

Erythrozyten	4,19 Mill.
Hb	12,0 g%
Hb_E	29
Leukozyten	8 500
Eos	1 %
Stab	3 %
Segm	51 %
Lymph	39 %
Mono	3 %
Thrombozyten	159 000

Patient G, P (Fall 6)

Alter: 72 Jahre
Diagnose: Prostatacarcinom
Knochenmark-Diagnose: Megakaryozytenvermehrung.
Therapie bis zur Sternalpunktion (27.1.67):
Atosil 30 Trpf.
Honvan 2 Amp.
Cyren B forte
Farmacyrol fortiss.
Lanicor
Blutbild (21.1.67):

Erythrozyten	3,99 Mill.
Hb	12,2 g%
Ho_E	30
Leukozyten	6 100
Bas	0 %
Eos	3 %
Stab	7 %
Segm.	61 %
Lymph.	20 %
Mono	9 %
Thrombozyten	89 000

Patient G, B (Fall 7)

Alter: 58 Jahre
Diagnose: Leberzellcarcinom
Knochenmark-Diagnose: unauffälliges Knochenmark
Therapie bis zur Sternalpunktion (26.9.67):
Lanicor
Lasix
Jahropuer 4x 1 Drg.
Blutbild (22.9.67):

Erythrozyten	3,45 Mill.
Hb	11,0 g%
Hb_E	32
Leukozyten	2 900
Stab	4 %
Segm	66 %
Lymph	28 %
Mono	2 %
Thrombozyten	81 000

Patient H, A (Fall 8)

Alter: 71 Jahre

Diagnose: renale Insuffizienz bei chronischer Polynephritis,
chronischer Leberparenchymschaden, dringender Verdacht
einer Erkrankung des lymphoreticulären Systems,
Streptokokken-Infekt,
Arthrosis.

Knochenmark-Diagnose: Sideroachrestische Anaemie

Therapie bis zur Sternalpunktion (11.9.67):

Lanicor
ε-Aminocapronsäure
Pasparin
Novalgin
Beromycin Tabl.

Blutbild (5.9.67):

Erythrozyten	1,73 Mill.
Hb	8,1 g%
Hb_E	29,8
Leukozyten	18 900
Prom	1 %
Myel	1 %
Meta	1 %
Stab	9 %
Segm	76 %
Lymph	11 %
AMZ	1 %

Vereinzelte Doehle-Körperchen

Patientin N, M (Fall 9)

Alter: 71 Jahre
Diagnose: Verdacht auf Myelose
Knochenmark-Diagnose: sideroachrestische Anaemie
Therapie bis zur Sternalpunktion (23.1.67):
Ultracorten 50 mg/tgl.
Blutbild (20.1.67):

Erythrozyten	3,73 Mill.
Hb	11,0 g%
Hb_E	29,4
Leukozyten	2 500
Meta	2 %
Stab	11 %
Segm	25 %
Lymph	58 %
Mono	4 %
Thrombozyten	20 000/mm³

D. Ergebnisse

Insgesamt wurden aus den Knochenmarkskulturen von 9 Patienten 66 000 Zellen differenziert. Wegen weitgehender Zelldegeneration konnten bei Fall 2, Fall 4 und Fall 6 in den 72 Stundenkulturen nicht 1000 Zellen bestimmt werden.

Bei der zeichnerischen Darstellung wurden folgende Abkürzungen verwendet: für die

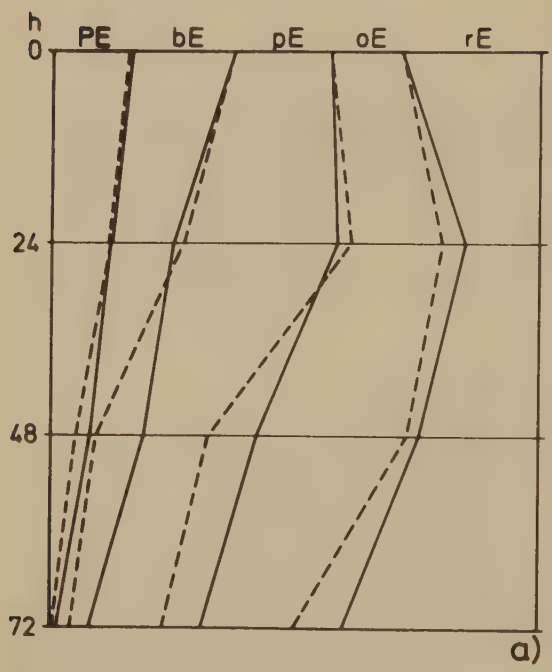
Granulopoese:
- MB = Myeloblasten
- P = Promyelozyten
- NM = neutrophile Myelozyten
- EM = eosinophile Myelozyten
- J = neutrophile jugendliche Granulozyten (Metamyelozyten)
- St = neutrophile stabkernige Granulozyten
- NS = neutrophile segmentkernige Granulozyten
- ES = eosinophile segmentkernige Granulozyten

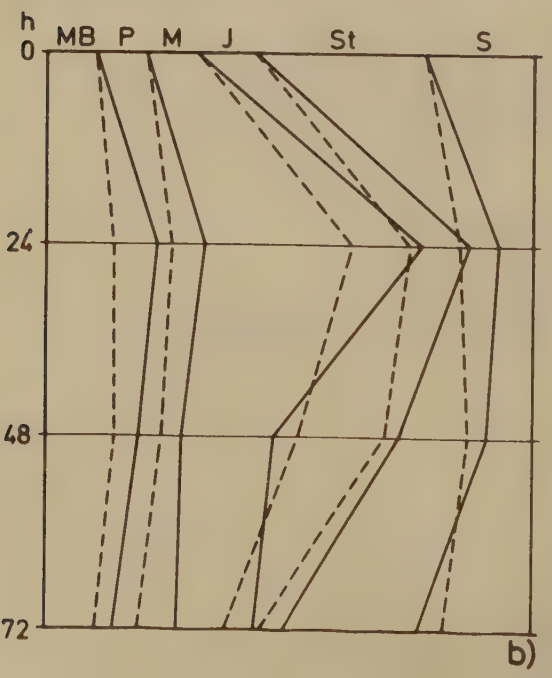
Erythropoese:
- PE = Proerythroblasten
- bE = basophile Erythroblasten
- pE = polychromatische Erythroblasten
- oE = oxyphile Erythroblasten
- rE = reife Erythroblasten

Ferner gelten folgende Kennzeichen:

---------- Kontrollkulturen
- - - - - - - - Kulturen mit 0,1 mg% TPP-Zusatz
..... Kulturen mit 0,01 mg% TTP-Zusatz

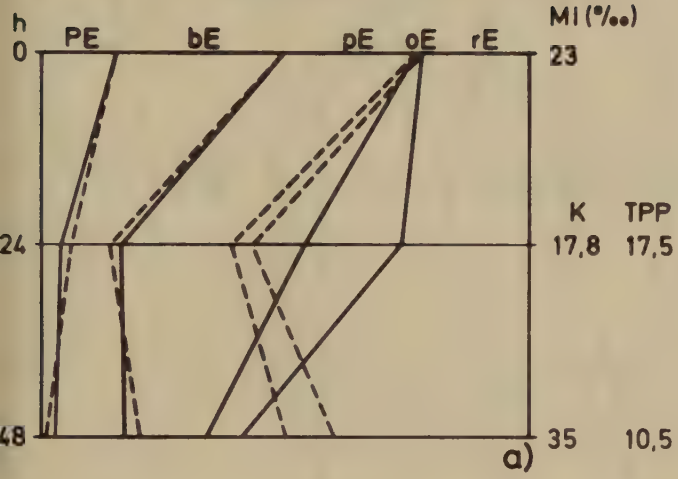
REIFUNGSKURVEN
Fall 1 (Retikulose)

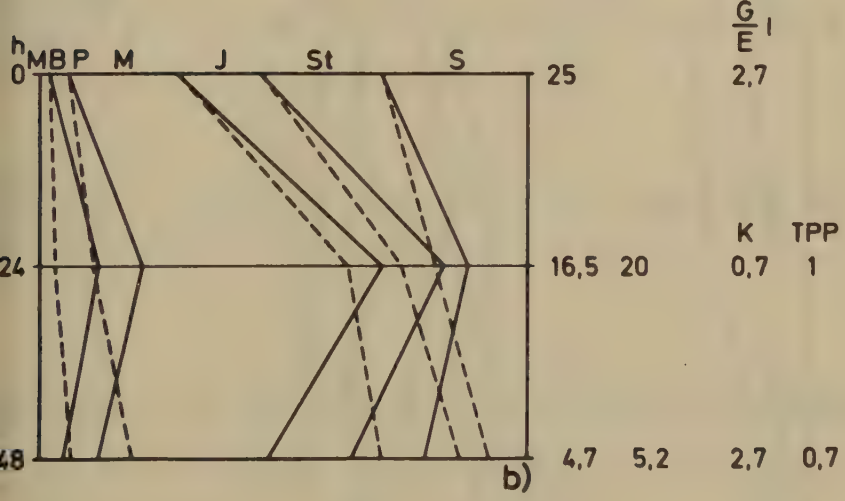




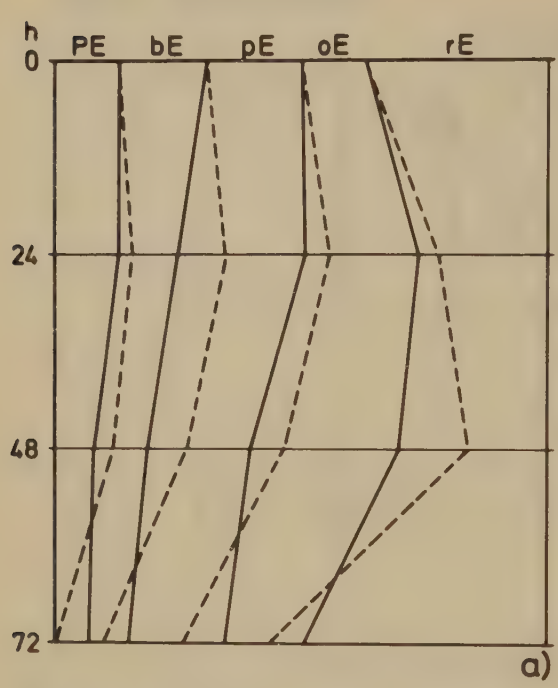
	$\frac{G}{E}$ I	K	TPP
	3,3		
		0,5	<1
		0,7	3
		2,4	1,4

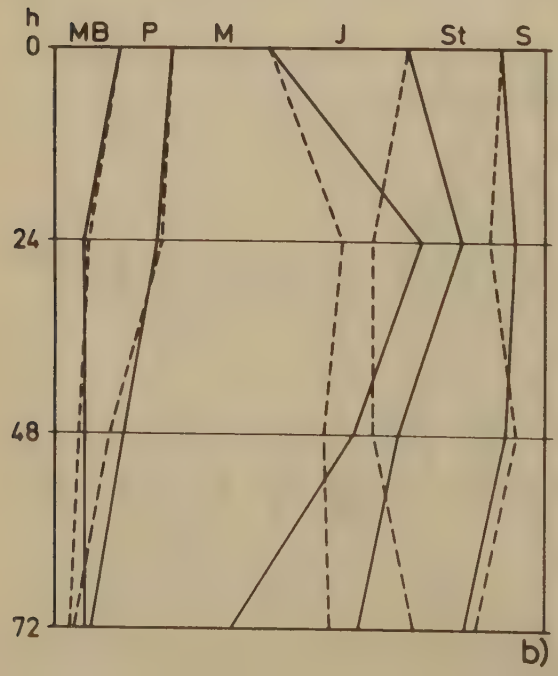
Fall 2 (Retikulose)





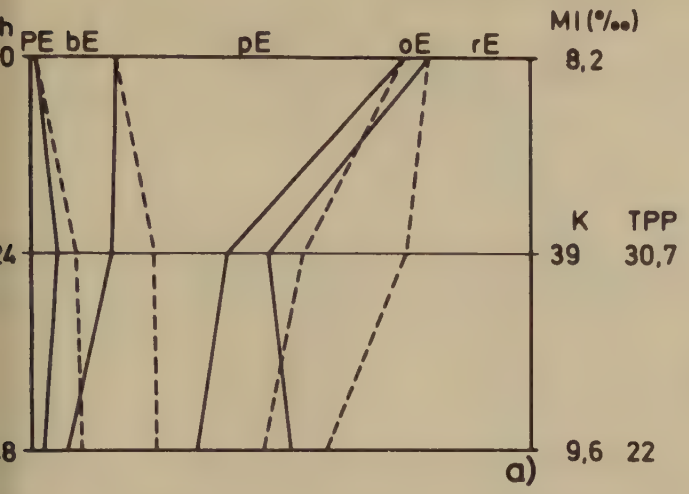
Fall 3 (Monocytenleukämie)

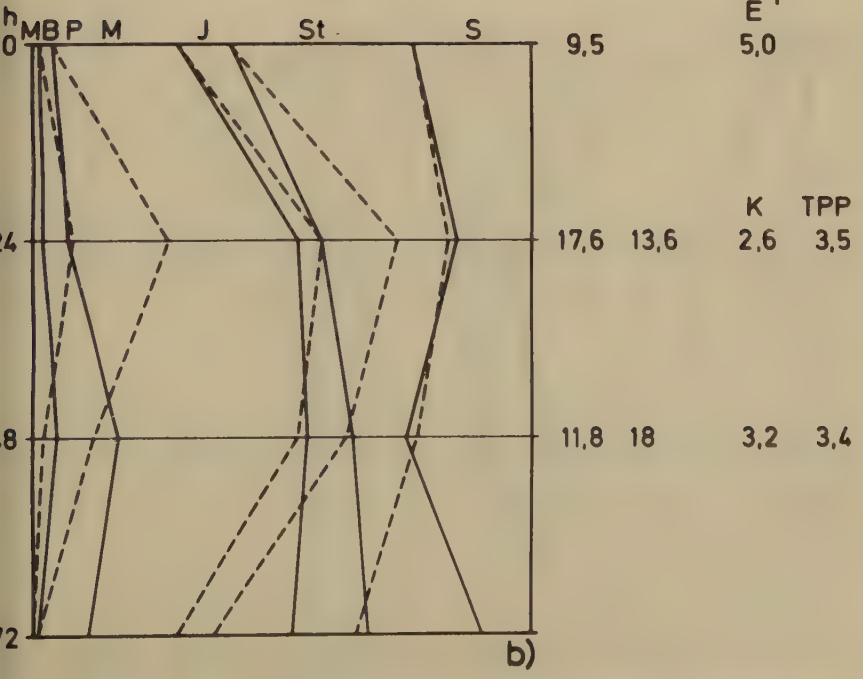




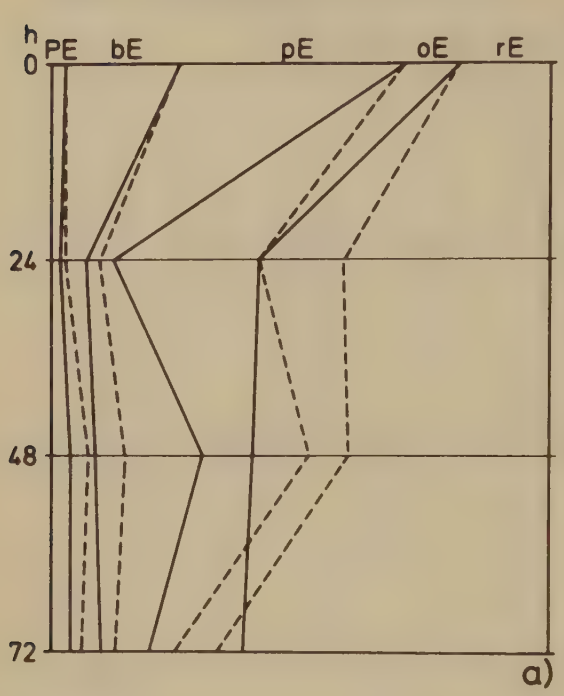
	G/E I	K	TPP
	4,1		
		2	0,9
		1,2	1,06
		1,06	1,1

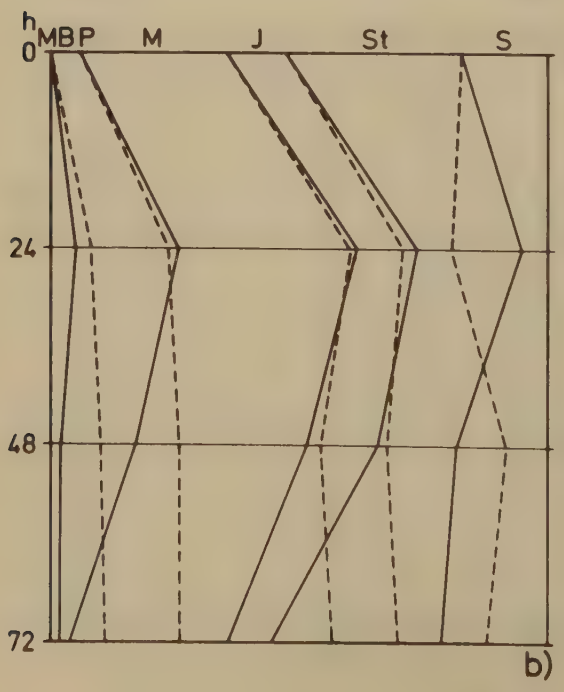
Fall 4 (Lymphogranulomatose)





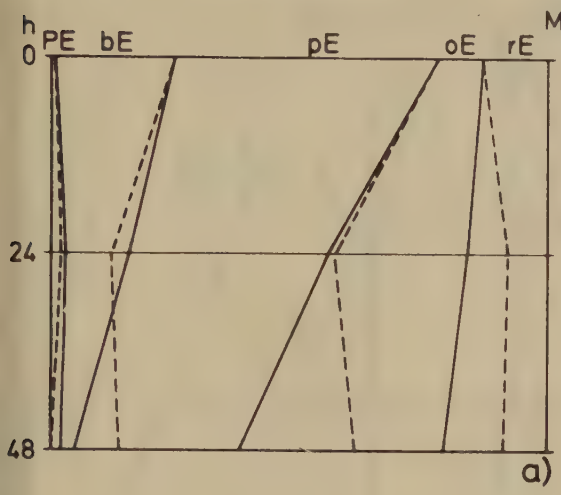
Fall 5 (Magencarcinom)

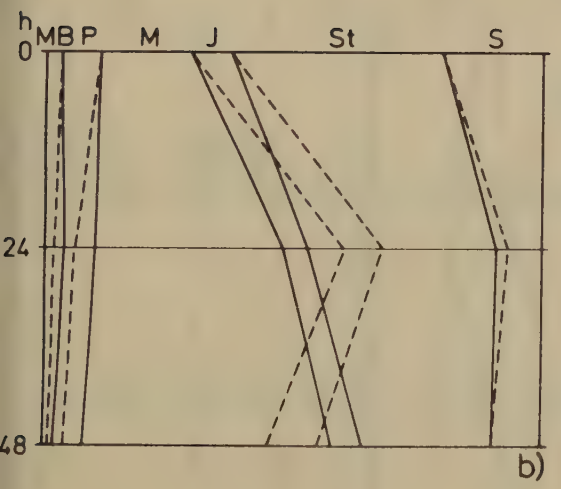




	G/E	I	K	TPP
	3			
			1,8	1,1
	2		4,6	7,7

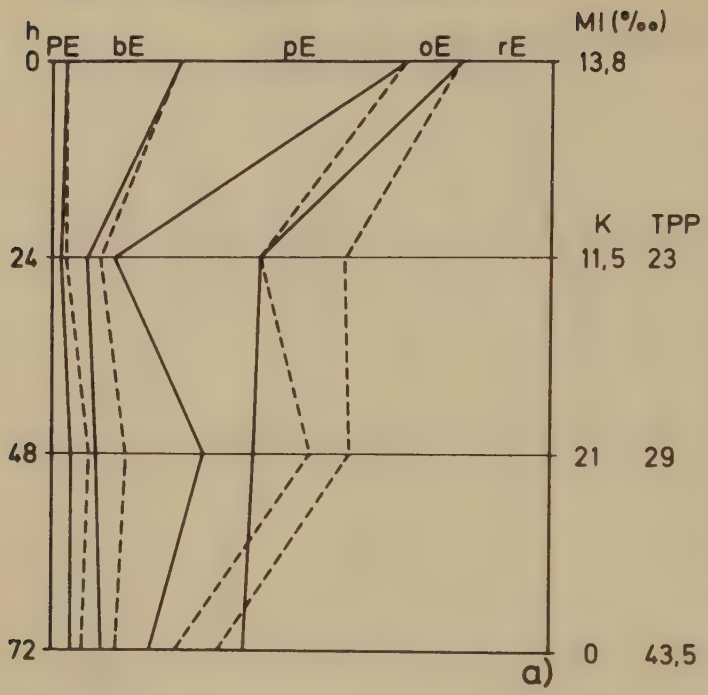
Fall 6 (Prostatacarcinom unter Oestrogenen)

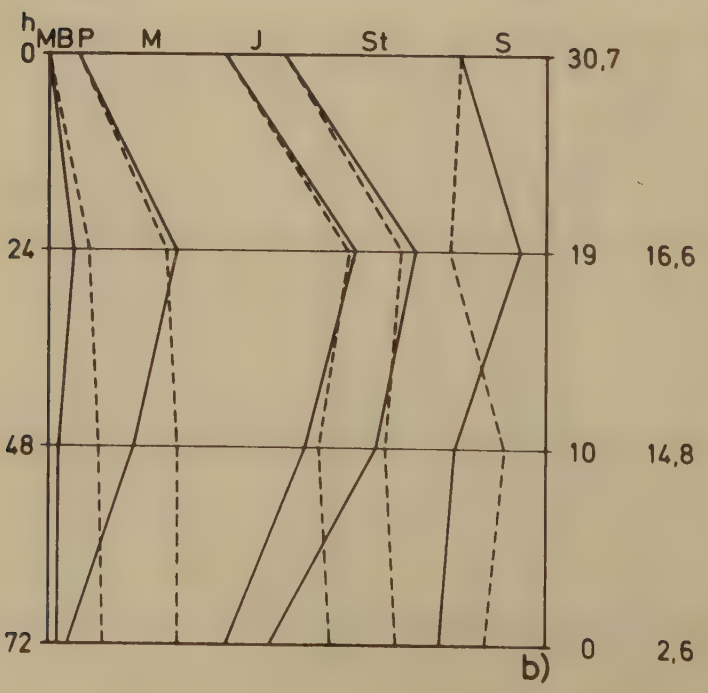




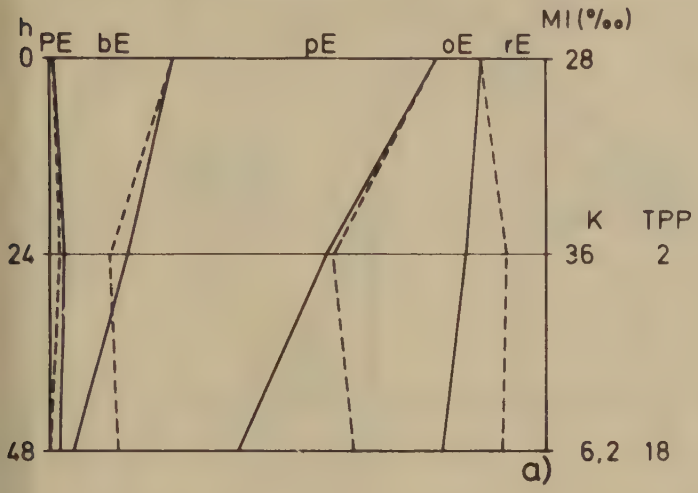
		G/E I	
		1,5	
		K	TPP
7,5	18	1,5	0,3
16	9	2,5	0,5

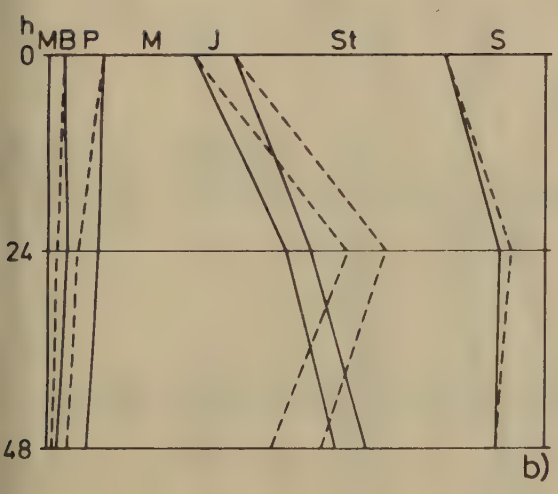
Fall 5 (Magencarcinom)





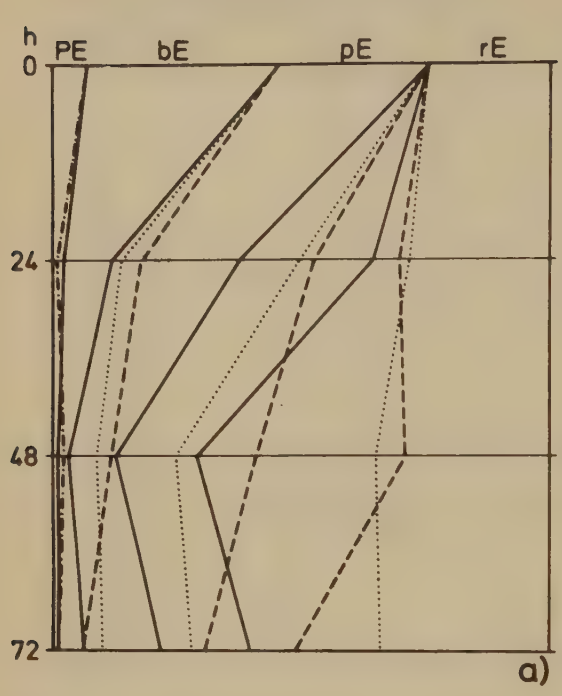
Fall 6 (Prostatacarcinom unter Oestrogenen)

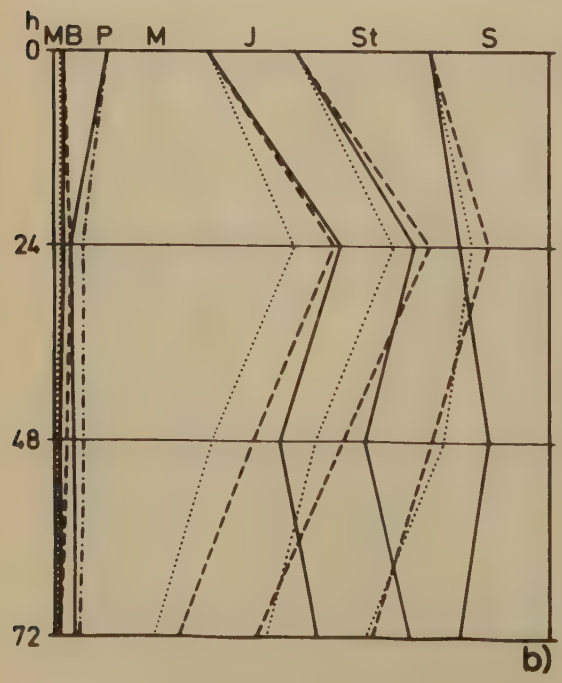




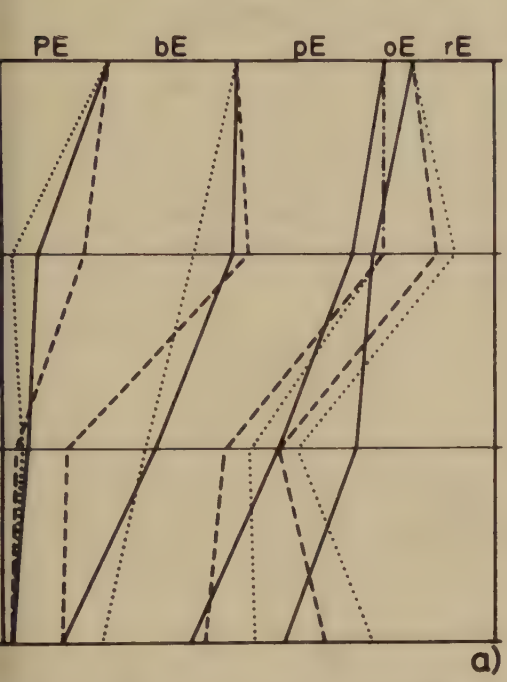
	G/E I	K	TPP
	1,5		
		1,5	0,3
		2,5	0,5

Fall 7 (Lebercarcinom)





Fall 8 (sideroachrestische Anaemie)

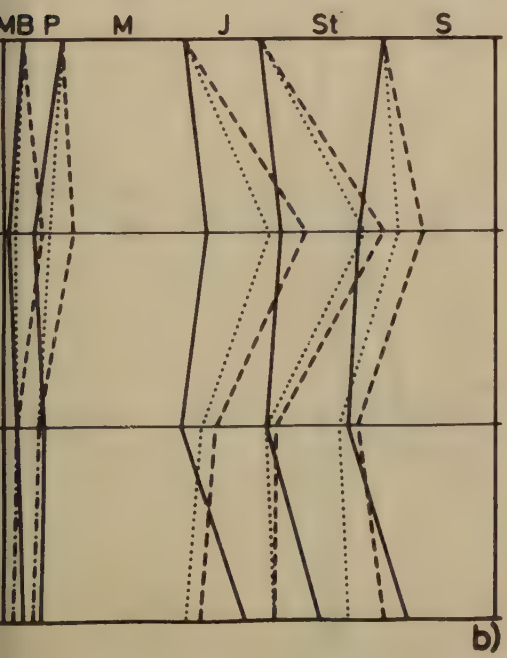


MI (‰)

34,6

K	TPP 1:10	TPP 1:100
21,6	26	12,7
18,4	0	26
31,3	0	4,9

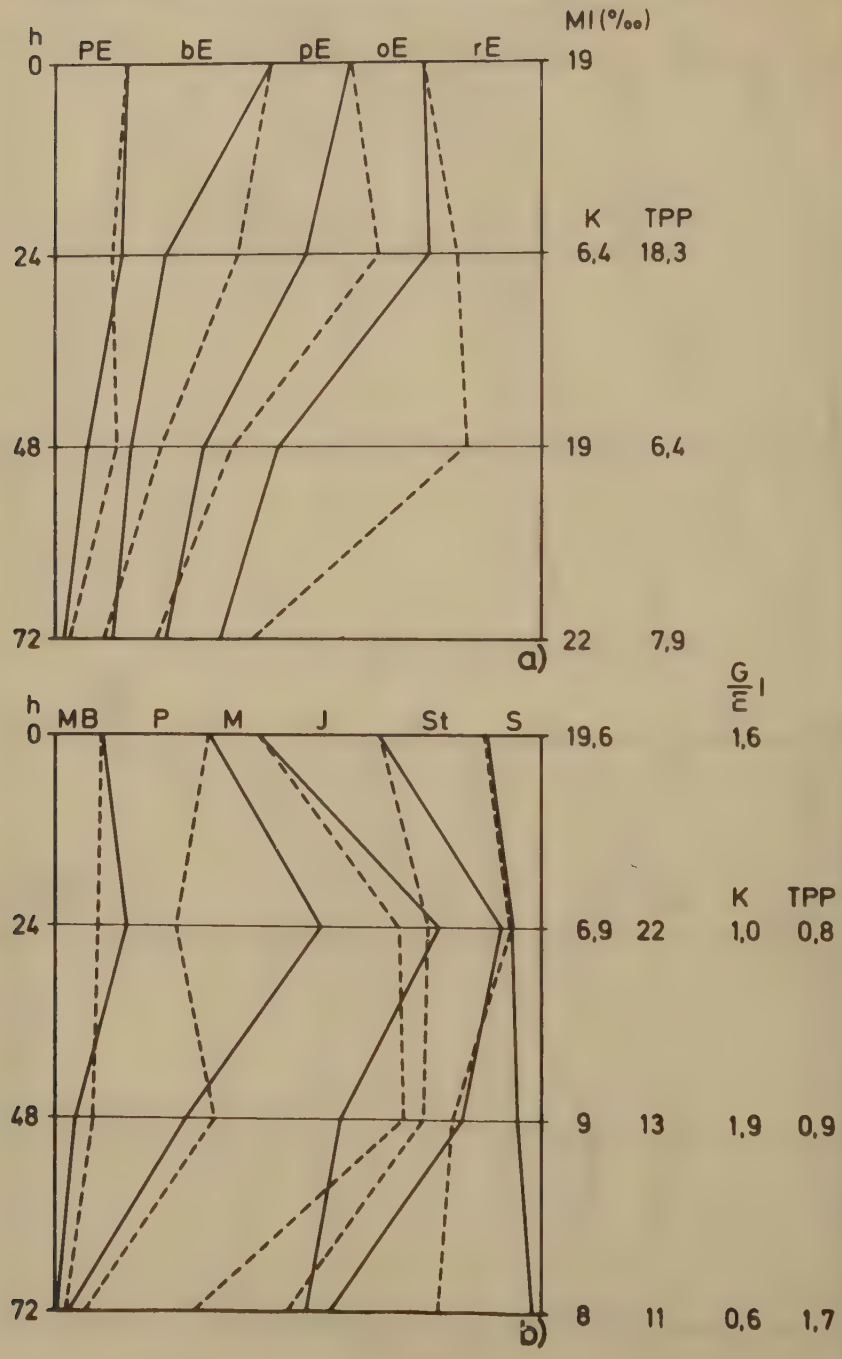
a)

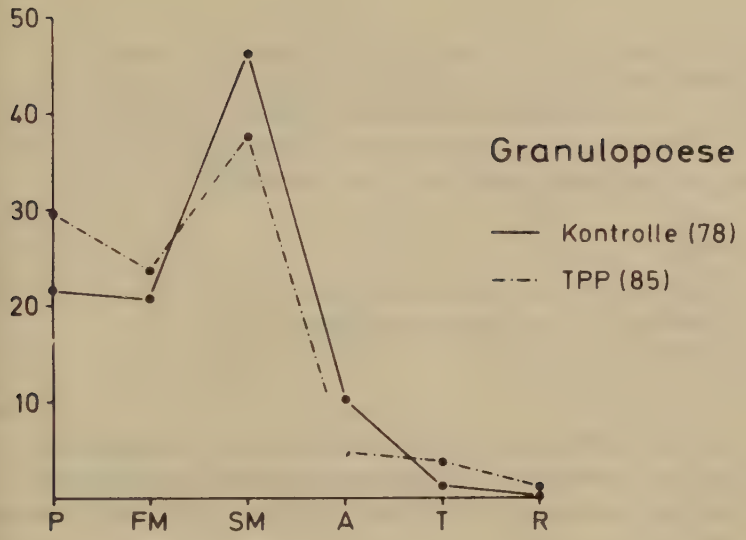


			G/E I		
15			5,6		
			K	TPP 1:10	TPP 1:100
26,6	10	5	2,1	1	2,1
8,1	0	7,5	3,5	2,3	1,5
18	11,3	14	1,3	7,3	1,4

b)

Fall 9 (sideroachrestische Anaemie)




50
40
30
20
10
P
FM
SM
A
T
R
Granulopoese
Kontrolle (78)
TPP (85)

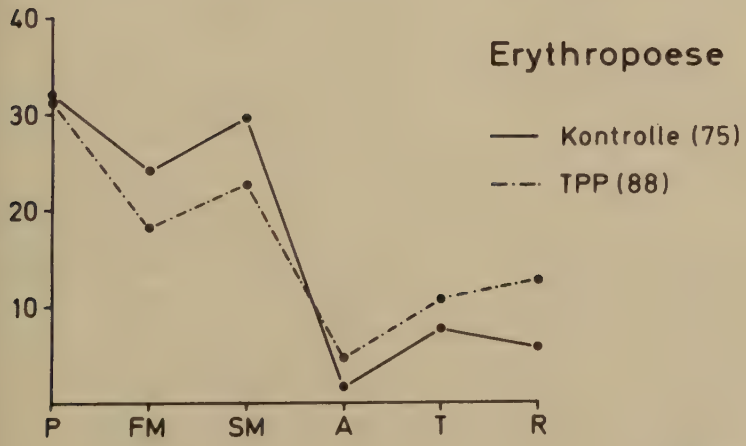

40
30
20
10
P
FM
SM
A
T
R
Erythropoese
Kontrolle (75)
TPP (88)

Abb 10

Die Signifikanz wurde mit dem χ^2 Test nach H. P e a r s o n (Wiss. Tabellen J.R. Geigy 1955) bestimmt. Für die weiße Reihe mit 6 differenzierten Zellformen war die Signifikanz mit einer Fehlerwahrscheinlichkeit von 1 % bei $\chi^2 = 15$ gegeben; in der roten Reihe bei 5 Zellformen bei $\chi^2 = 13$.

Dabei sind

a = Zellzahl in den Zusatzkulturen
b = Zellzahl in den Kontrollkulturen
m (Mittelwert) = $\frac{a + b}{2}$

Bei zu großen Differenzen in den Summen von a + b wurde der Faktor $\frac{a}{a + b}$ bestimmt, der dann mit der Summe der einzelnen Zellformen multipliziert wurde. Dieser Faktor steht in Klammern hinter "m".

$\Delta = a - m$

Die Differenz aus der Zellzahl der Zusatzkulturen (a) und dem Mittelwert (m) ergibt Δ .

Tabelle 1

G

Patient M.A.(Fall 1)(Retikulose) - Granulopoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m $(\frac{a+b}{2})$	Δ(a-m)	Δ^2/m
MB	23	51	37	14	5,4
P	28	27	27	1	0,15
M	86	100	93	7	0,52
J	27	22	25	2	0,16
St	33	14	24	9	3,3
S	39	15	27	24	20,7
	236	225			χ^2 = 30,23

0,1 mg% nach 48 Std.

			m (0,64)		
MB	57	41	50,0	6	0
P	34	20	25	1	0
M	111	41	98	13	1
J	73	53	81	8	0
St	68	38	68	0	0
S	53	21	47	6	0
	396	214			nicht signifikant

0,1 mg % nach 72 Std.

MB	23	43	33	10	3
P	20	39	30	10	3,3
M	43	50	47	4	0,3
J	15	18	17	2	0,2
St	88	83	86	2	0,04
S	44	75	60	16	4,2
	233	308			nicht signifikant

Tabelle 1

Patient M.A.(Fall 1)(Retikulose) - Erythropoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	38	46	42	4	0,4
bE	45	51	48	3	0,2
pE	105	135	120	15	1,8
oE	59	102	81	22	6
rE	55	65	60	5	0
	302	399			nicht signifikant

0,1 mg% nach 48 Std.

			m(0,32)		
PE	6	24	10	4	1
bE	5	30	11	6	3
pE	31	65	31	0	0
oE	54	96	48	6	0
rE	37	67	33	4	0
	133	282			nicht signifikant

0,1 mg% nach 72 Std

PE	2	2	2	0	0
bE	7	12	10	3	0,9
pE	31	34	33	2	0,1
oE	45	53	49	4	0
rE	81	66	74	7	0
	166	167			nicht signifikant

Tabelle 2
G

Patient M, A (Fall 2) (Retikulose) - Granulopoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	9	27	18	9	4,5
P	22	20	21	1	0
M	140	107	125	17	1
J	29	28	29	0	0
St	20	12	16	4	1
S	49	26	38	9	2
	271	220			nicht signifikant

0,1 mg% nach 48 Std.

			m (0,39)		
MB	13	17	12	1	0,09
P	28	22	15	13	11,2
M	111	117	85	26	8
J	35	55	35	0	0
St	12	51	25	13	6,6
S	18	71	35	17	8,2
	217	333			χ^2 = 34,09

Die Ergebnisse nach 72 Std. sind nicht verwertbar, da in den TPP-Präparaten nur 500 Zellen ausgezählt werden konnten.

Tabelle 2

E

Patient M, A (Fall 2) (Retikulose) - Erythropoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	16	12	14	2	0,20
bE	22	38	30	8	2,4
pE	66	116	91	25	6,8
oE	10	6o	35	25	17,8
rE	149	82	116	33	9,3
	263	308			$\chi^2 =$ 36,58

0,1 mg% nach 48 Std.

			m (0,69)		
PE	4	4	6	2	0
bE	61	19	55	6	0
pE	95	24	82	13	2
oE	30	10	27	3	0
rE	126	81	143	17	2
	316	138			nicht signifikant

Die Ergebnisse nach 72 Std. sind nicht verwertbar, da in den TPP-Präparaten nur 500 Zellen ausgezählt werden konnten.

Tabelle 3
G

Patient Sch, A (Fall 3) (Monoblastenleukämie) - Granulopoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	21	20	21	0	0
P	40	50	45	5	0,6
M	123	181	152	29	5,5
J	16	27	22	6	1,6
St	67	37	52	15	4,3
S	36	18	27	9	3
	283	333			$\chi^2 = 15,0$

0,1 mg% nach 48 Std.

MB	19	24	22	3	0
P	22	31	27	5	0
M	150	192	171	21	3
J	47	34	41	6	0
St	99	85	92	7	0
S	24	35	30	6	0
	361	401			nicht signifikant

0,1 mg% nach 72 Std.

MB	10	20	15	5	1,
P	4	4	4	0	0
M	150	97	124	26	5,4
J	48	89	69	21	6,4
St	37	72	55	18	5,9
S	40	60	50	10	2
	289	342			$\chi^2 = 21,$

Tabelle 3

E

Patient Sch, A (Fall 3) (Monoblastenleukämie) - Erythropoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m (0,64)	Δ	$\Delta^2/_m$
PE	44	20			
bE	52	18			
pE	59	39	n i c h t	s i g n i f i k a n t	
oE	65	35			
rE	59	40			
	277	152			

0,1 mg% nach 48 Std.

PE	40	25	33	7	1,5
bE	50	35	43	7	1,1
pE	69	67	68	1	0,01
oE	125	97	111	14	1,7
rE	56	101	79	23	6,7
	340	325			χ^2 = 10,91 = nicht signifikant

0,1 mg% nach 72 Std.

PE	1	21			
bE	25	27			
pE	42	63	n i c h t	s i g n i f i k a n t	
oE	47	52			
rE	151	160			
	264	323			

Tabelle 4

G

Patientin G, U (Fall 4) (Lymphogranulomatose) - Granulopoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	47	13	30	17	9,6
P	114	29	67	47	33
M	188	270	229	41	73,4
J	90	29	60	30	15
St	63	154	109	46	19,4
S	105	86	96	9	0,8
	608	581			$\chi^2 = 151,2$

0,1 mg% nach 48 Std.

			m (0,44)		
MB	12	32	19,4	7	3
P	52	79	58	7	0
M	215	259	209	6	0
J	55	65	53	2	0
St	73	78	66	6	0
S	129	162	128	1	0
	536	675			nicht signifikant

Die Ergebnisse nach 72 Stunden konnten nicht verwertet werden, da in der Kontrollkultur nur 500 Zellen ausgezählt werden konnten.

Tabelle 4

E

Patientin G, U (Fall 4) (Lymphogranulomatose) - Erythropoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
PE	16	12	14	2	0,3
bE	26	24	25	1	0,04
pE	51	50	51	0	0
oE	37	18	28	9	2,9
rE	44	120	82	38	17,0
	174	224			$\chi^2 = 20,24$

0,1 mg% nach 48 Std.

PE	15	4	10	5	2,5
bE	24	11	13	11	9,3
pE	32	53	43	11	2,8
oE	21	40	31	10	3,3
rE	66	100	83	17	3,4
	158	208			$\chi^2 = 21,3$

Die Ergebnisse nach 72 Stunden konnten nicht verwertet werden, da in der Kontrollkultur nur 500 Zellen ausgezählt werden konnt

Tabelle 5

G

Patient R, C (Fall 5) (Magencarcinom) - Granulopoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
MB	32	22	27	5	0,9
P	66	85	76	10	1,3
M	178	156	167	9	0,04
J	36	49	43	6	0,8
St	45	84	75	30	12
S	83	15	49	34	23,6
	425	411			χ^2 = 38,64

0,1 mg% nach 48 Std.

			m (0,3)		
MB	21	81	31	10	3,2
P	31	64	28	3	0,3
M	58	158	65	7	0,8
J	25	63	27	2	0,15
St	47	74	37	10	2,7
S	17	83	30	13	5,6
	199	450			χ^2 = 12,75

0,1 mg% nach 72 Std.

MB	60	4	44	16	5,8
P	83	5	60	23	8,8
M	169	79	168	1	0
J	68	23	62	6	0,58
St	97	83	122	25	5,1
S	65	53	80	15	2,8
	542	247			χ^2 = 23,08

Tabelle 5

Patient R, C (Fall 5) (Magencarcinom) - Erythropoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m(0,62)	Δ	Δ^2/m
PE	12	3	9	3	1
bE	25	9	21	4	0,76
pE	120	13	82	36	15,8
oE	60	64	77	17	3,8
rE	156	135	180	24	3,1
	376	224			χ^2 = 24,4

0,1 mg% nach 48 Std.

PE	14	11	13	1	0,08
bE	13	11	7	6	5,1
pE	65	52	59	6	0,6
oE	12	21	17	5	2,0
rE	69	132	101	32	10,1
	173	227			χ^2 = 17,88

0,1 mg% nach 72 Std.

PE	4	2	3	1	
bE	5	3	4	1	
pE	8	5	7	1	keine
oE	6	10	8	2	Signifik.
rE	45	33	39	6	
	68	53			

Tabelle 6
G

Patient G, P (Fall 6) (Prostatacarcinom) - Granulopoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m (0,37)	Δ	Δ^2/m
MB	4	15	7	3	1,2
P	8	24	12	4	1,3
M	128	158	100	28	7,8
J	20	18	14	6	2,6
St	61	150	78	17	3,7
S	16	32	18	2	0,2
	237	397			$\chi^2 = 16,7$

0,1 mg% nach 48 Std.

			m (0,28)		
MB	1	12	4	3	2
P	6	30	10	4	1,6
M	80	248	92	12	1
J	16	20	13	3	0
St	68	123	54	14	4
S	016	45	17	1	0,6
	187	488			nicht signifikant

Die Ergebnisse nach 72 Stunden konnten nicht verwertet werden, da in der Kontrollkultur nur unter 500 Zellen ausgezählt werden konnten.

Tabelle 6
E

Patient G, P (Fall 6) (Prostatacarcinom) - Erythropoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m (0,62)	Δ	Δ^2/m
PE	9	9	10	2	0,4
bE	12	35	49	5	0,5
pE	193	105	184	9	0,4
oE	156	73	132	24	4,1
rE	39	39	49	10	2
	440	261			nicht signifikant

0,1 mg% nach 48 Std.

			m (0,66)		
PE	1	5	4	3	2,2
bE	57	7	42	15	5,3
pE	197	69	174	23	3,0
oE	124	83	136	12	1,0
rE	32	43	50	18	6,4
	411	207			χ^2 = 18,2

Die Ergebnisse nach 72 Std. konnten nicht verwertet werden, da in der Kontrollkultur nur unter 500 Zellen ausgezählt werden konnten.

Tabelle 7 G

atient G, B (Fall 7) (Lebercarcinom) - Granulopoese -

,1 mg% nach 24 Std.

elltyp	a	b	m	Δ	Δ^2/m
B	8	7	8	0	0
	7	4	6	1	0,1
	145	171	158	13	1,7
	52	45	49	3	0,1
t	33	28	31	2	0,1
	32	52	42	10	2,4
	277	307			χ^2 = nicht signif.

,01 mg% nach 24 Std.

B	7	7	7	0	0
	11	4	8	3	1,1
	135	171	103	32	9,0
	63	45	54	9	1,5
t	50	28	39	11	3,1
	51	52	52	1	0,02
	317	307			χ^2 = nicht signif. = 14,72

,1 mg% nach 48 Std.

			m(0,7)		
B	2	7	3	1	0,3
	6	13	7	1	0,1
	126	221	128	2	0,03
	59	89	55	4	0,3
t	58	128	68	10	1,4
	73	75	55	18	5,8
	324	533			χ^2 = nicht signif.

,01 mg% nach 48 Std.

B	12	7	8	4	2,0
	14	13	12	2	0,3
	112	221	146	34	8,0
	86	89	76	10	0,1
t	111	128	105	6	0,3
	95	72	75	10	1,1
	430	533			χ^2 = nicht signif.

,1 mg% nach 72 Std.

B	1	3	2	1	0,5
	1	5	3	2	1,3
	63	156	109	46	19,4
	42	70	56	14	3,5
t	59	15	37	22	13,1
	97	46	72	25	8,7
	262	295			χ^2 = nicht signif.

,01 mg% nach 72 Std.

B	5	3	3	2	1,3
	2	5	2	0	0
	26	156	82	56	20,9
	34	70	35	1	0,03
t	31	15	15	16	17,2
	54	46	34	20	11,8
	152	295			χ^2 = 50,37

Tabelle 7 E

Patient G, B (Fall 7) (Lebercarcinom) - Erythropoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	$\Delta^2/_m$
PE	5	9	7	2	0,57
bE	79	42	61	18	5,3
pE	160	105	133	27	6,0
oE	79	104	92	13	1,8
rE	133	138	136	3	0,06
	456	398			χ^2= 13,43

0,01 mg% nach 24 Std.

PE	5	9	7	2	0
bE	63	42	53	10	2
pE	176	105	112	34	8,1
oE	108	104	106	2	0,04
rE	141	138	140	1	0,0
	493	398			χ^2 = nicht signif.

0,1 mg% nach 48 Std.

m (0,75)

PE	6	0	5	1	0,2
bE	52	4	42	10	2,4
pE	139	17	117	22	4,1
oE	143	25	126	16	2,05
rE	140	109	112	28	7
	480	155			χ^2 = 15,7

0,01 mg% nach 48 Std.

m (0,71)

PE	7	0	5	2	0,8
bE	28	4	23	5	1,0
pE	62	17	56	6	0,5
oE	151	25	125	26	5,4
rE	134	109	173	39	8,9
	382	155			χ^2 = 16,6

0,1 mg% nach 72 Std.

PE	0	1	1	1	1
bE	7	6	7	0	0
pE	28	19	24	4	0,7
oE	20	23	22	2	0,1
rE	54	74	64	10	1,6
	109	123			χ^2 = nicht signif.

0,01 mg% nach 72 Std.

m (0,68)

PE	1	1	1	0	0
bE	27	6	22	5	1,1
pE	49	19	46	3	0
oE	104	23	85	19	4,2
rE	90	74	113	23	4,5
	271	123			χ^2 = nicht signif.

Tabelle 8

G

Patient H, A (Fall 8) (sideroachrestische Anämie) - Granulopoese -

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m (0,42)	Δ	$\Delta^2/_m$
MB	32	7	16	16	16,0
P	22	25	20	2	0,2
M	190	190	160	30	5,6
J	62	78	59	3	0,1
St	30	85	48	18	6,7
S	61	153	95	33	1,1
	393	538			$\chi^2 = 29,7$

0,01 mg% nach 24 Std.

MB	11	7	9	2	0,4
P	40	25	33	7	1,5
M	249	190	220	29	3,8
J	102	78	90	12	1,6
S	119	153	136	17	32,1
	562	538			$\chi^2 = 17,1$

0,1 mg% nach 48 Std.

MB	20	22	21	1	0,05
P	26	26	26	0	0
M	223	202	213	10	0,04
J	74	218	96	22	5,1
St	107	111	109	2	0,04
S	168	230	199	31	4,9
	618	709			$\chi^2 = 10,13$ (nicht signif.)

0,01 mg% nach 48 Stdt.

			m (0,41)		
MB	17	22	16	1	0,06
P	15	26	17	2	0,2
M	169	202	152	17	1,9
J	64	118	75	11	1
St	75	111	75	0	0
S	152	230	156	4	0,1
	492	709			$\chi^2 =$ nicht signif.

0,1 mg% nach 72 Std.

			m (0,6)		
MB	12	17	24	12	6
P	23	12	21	2	0,2
M	222	184	244	22	2,0
J	97	64	96	1	0,01
St	143	79	132	11	0,9
S	165	83	150	15	1,5
	662	439			$\chi^2 = 10,61$ (nicht signif.)

0,01 mg% nach 72 Std.

MB	9	17	13	4	1,2
P	15	12	14	1	0,7
M	118	184	151	33	7,2
J	73	64	69	4	0,2
St	57	79	68	11	1,7
S	104	83	94	10	1,0
	376	439			$\chi^2 = 12,0$ (nicht signif.)

Tabelle 8
E

Patient H, A (Fall 8) (sideroachrestische Anämie) - Erythropoese -

0,1 mg % nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m (0,58)	Δ	$\Delta^2/_m$
PE	58	18	44	12	4,5
bE	119	98	136	17	2,1
pE	90	59	86	4	0,19
oE	38	10	28	10	3,6
rE	46	62	68	22	3,6
	351	247			χ^2 = 13,99 (gerade signifikant)

0,01 mg% nach 24 Std.

PE	6	18	12	6	3,0
bE	94	98	96	2	0,04
pE	97	59	78	19	4,7
oE	39	10	25	14	7,8
rE	22	62	42	20	9,5
	258	247			χ^2 = 25,04

0,1 mg% nach 48 Std.

PE	8	10	9	1	0,1
bE	27	50	39	12	3,7
pE	86	50	68	18	4,7
oE	29	54	76	13	4,05
rE	119	32	76	43	23
	269	196			χ^2 = 35,55

0,01 mg% nach 48 Std. m (0,65)

PE	13	10	15	2	0,2
bE	79	50	84	5	0,3
pE	69	50	77	8	0,8
oE	31	54	55	24	10,6
rE	130	32	104	26	6,5
	322	196			χ^2 = 18,4

0,1 mg% nach 72 Std. m (0,24)

PE	2	7	2	0	0
bE	9	30	8	1	0,1
pE	27	83	23	4	0,7
oE	24	71	20	4	0,8
rE	32	144	37	5	0,7
	94	335			χ^2 = nicht signif.

0,01 mg% nach 72 Std.

PE	6	7	7	1	0,1
bE	48	30	39	9	2,1
pE	85	83	84	1	0,01
oE	65	71	68	3	0,13
rE	71	144	108	37	12,3
	275	335			χ^2 = 14,64

Tabelle 2 G

Patientin N, M (Fall 9) (sideroachresti-) - Granulopoese - sche Anämie

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	$\Delta^2/_m$
MB	17	70	53	17	4,8
P	62	180	121	59	28,7
M	175	128	152	23	20,6
J	27	58	43	16	5,9
St	67	8	38	29	22,1
S	12	4	8,1	5	3,1
	384	448			χ^2 = 85,2

0,1 mg% nach 48 Std.

MB	31	18	25	6	1,4
P	102	120	111	9	0,7
M	160	164	162	2	0,02
J	15	128	72	57	45,5
St	25	60	43	18	7,5
S	72	28	50	22	9,6
	405	518			χ^2 = 64,72

0,1 mg% nach 72 Std.

			m (0;69)		
MB	13	9	8,9	4	1,8
P	20	3	15,8	4	1,0
M	123	120	167,67	45	12
J	104	13	80,7	23	6,5
St	166	99	183	17	1,5
S	102	4	73	29	11,5
	528	236			χ^2 = 34,3

Tabelle 9

E

Patientin N, M (Fall 9) (sideroachresti-) - Erythropoese -
sche Anämie

0,1 mg% nach 24 Std.

Zelltyp	a	b	m	Δ	$\Delta^2/_m$
PE	52	45	49	4	0,3
bE	116	38	77	38	18,1
pE	131	121	76	55	39,8
oE	73	116	95	22	5,0
rE	73	105	89	15	2,5
	446	415			χ^2=65,7

0,1 mg% nach 48 Std. m (0,58)

PE	40	20	35	5	0,7
bE	34	24	34	0	0
pE	56	42	57	1	0,01
oE	180	42	129	51	20,1
rE	67	142	121	54	24,0
	377	270			χ^2=44,81

0,1 mg% nach 72 Std.

PE	9	0	4,5	4,5	4,5
bE	22	43	32,5	10,5	3,4
pE	34	44	39	5	0,6
oE	62	50	56	6	0,6
rE	180	225	202,5	22,5	2,4
	307	389			χ^2=11,5

nicht signifikant

Die Reifungskurven der Knochenmarkkulturen der ersten 4 Knochenproben bei

Retikulose (Fall 1 und 2)
Monozytenleukämie (Fall 3)
Lymphogranulomatose (Fall 4)

zeigen bis 72 Stunden in vitro folgendes:

Fall 1 und 2:

Granulopoese (Abb. 1a und 2a)

Gegenüber den Originalausstrichen findet sich in den Kontrollserien nach 24 Stunden bei den Zählungen eine Vermehrung der Myeloblasten und Myelozyten und eine Verminderung der stabkernigen und segmentkernigen Granulozyten. Nach 48 Std. nehmen die Myeloblasten und Myelozyten ab, die Jugendlichen leicht zu. Die Stabkernigen nehmen weiter zu, die Segmentkernigen werden in einem Fall erhöht, im zweiten bleiben sie unverändert. Während in beiden Fällen nach 72 Std. die unreifen weißen Zellen abnehmen bzw. gleich bleiben, haben sich die Stabkernigen und im ersten Fall auch die Segmentkernigen vermehrt.

Bei der Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP sind nach 24 Std. anders als in den Kontrollen die Myeloblasten in beiden Fällen vermindert und die Stab- und Segmentkernigen vermehrt. Die Vermehrung der Stab- und Segmentkernigen sowie die Verminderung der Myelozyten der Versuchskulturen gegenüber den Kontrollen beeinflussen den signifikanten χ^2-Wert am stärksten, obwohl insgesamt nach 24 Std. in Fall 2 keine Signifikanz erreicht wird (Tab. 1_G, 2_G). Nach 48 Std. sind gegenüber den Kontrollen in beiden Fällen die Myeloblasten unverändert

geblieben, in Fall 2 sind die Promyelozyten vermehrt. Fall 1 zeigt unveränderte Mylozytenzahl, während sie in Fall 2 stark zugenommen haben. Stab- und Segmentkernige sind in Fall 1 unverändert, in Fall 2 stark vermindert. Die Veränderungen in Fall 1 nach 48 Std. sind nicht signifikant, während in Fall 2 durch Vermehrung der Promyelozyten und Verminderung der Myelozyten, Stab- und Segmentkernigen Signifikanz eingetreten ist. (Tab. 1_G, 2_G)

Nach 72 Std. ergeben sich für Fall 1 keine signifikanten Veränderungen gegenüber den Kontrollen (Tab. 1_G). Das TPP-Zusatzpräparat von 72 Std. konnte in Fall 2 nicht verwertet werden.

Erythropoese (Abb. 1b und 2b)

Gegenüber den Originalausstrichen findet sich bei den Kontrollkulturen nach 24 Std. in beiden Zählungen eine Verminderung der Proerythroblasten und besophilen Erythroblasten. Reife Erythroblasten sind leicht vermindert bzw. vermehrt. Im Laufe von 48 Std. und 72 Std. (Fall 1) nimmt der Anteil der reifen Erythrozyten dauernd zu.

Bei der TPP-Zusatzkonzentration von 0,1 mg% ergeben sich in Fall 1 nach 24 Std. keine Veränderungen gegenüber den Kontrollen, während sich bei Fall 2 die gegenüber den Kontrollen stärkere Abnahme der polychromatischen und oxyphilen Erythroblasten sowie die Zunahme der reifen Erythroblasten eine starke Signifikanz erzeugen (Tab. 2_G).

Nach 48 Std. ist bei Fall 1 die einzig auffallende Veränderung die Abnahme der basophilen Erythroblasten, wodurch die Reifungskurven entsprechend parallel zu den Kontrollen nach links verschoben werden. Auch nach 72 Std. bleibt die Verminderung der basophilen Erythroblasten, wodurch die reifen gegenüber den Kontrollen wesentlich vermehrt werden. Die Veränderungen bedingen zu beiden Zeitpunkten keine Signifikanz. Bei Fall 2 zeigt sich im wesentlichen nach 48 Std. gegenüber den Kontrollen

eine entgegengesetzte Bewegung, nämlich eine Vermehrung der polychromatischen Erythroblasten und Verminderung der reifen Erythroblasten. Beide Veränderungen bedingen jedoch keine Signifikanz.

Zusammenfassung der Reifungskurven bei Retikulose (Fall 1 und 2):

1. Granulopoese:

Unter 0,1 mg% TPP-Zusatz zeigen sich in beiden Fällen nur vereinzelt signifikante Veränderungen.

a) Nach 24 Std. kommt es in Fall 1 zur Myelozytenverminderung und Vermehrung der segment- und stabkernigen Granulozyten. Die Veränderungen von Fall 2 sind zu diesem Zeitpunkt nicht signifikant.
b) Dagegen finden wir in Fall 2 nach 48 Std. eine signifikante Vermehrung der Promyelozyten und Myelozyten, wodurch die reifen Granulozyten verringert werden.

2. Erythropoese:

a) Fall 1 zeigt unter 0,1 mg% TPP in allen 3 Kulturabschnitten keine signifikanten Veränderungen gegenüber den Kontrollen.
b) Im Fall 2 kommt es unter 0,1 mg% TPP im 24 Std.-Präparat zwar zu einer Verminderung der polychromatischen und oxyphilen Erythroblasten, wodurch die reifen zunehmen, die Veränderung wird jedoch im 48- und 72-Std.-Präparat wieder ausgeglichen, und es zeigen sich keine signifikanten Unterschiede zu den Kontrollen mehr.

Fall 3:

Granulopoese (Abb. 3a):

Gegenüber den Originalausstrichen findet sich bei den Kontrollkulturen nach 24 Std. eine Verminderung der Myeloblasten und jugendlichen Granulozyten sowie eine starke Myelozytenvermehrung. Im Verlauf von 48 und 72 Std. werden besonders die Promyelozyten und Myelozyten verringert, die Stab- und Segmentkernigen leicht vermehrt.

Bei der Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP findet die in den Kontrollen beobachtete Veränderung abgeschwächt statt, so daß speziell die Myelozyten gegenüber der Kontrollkultur abgenommen haben, wodurch der Anteil der Stabkernigen größer wird. Myelozyten und stabkernige Granulozyten beeinflussen die Signifikanz des χ^2-Wertes am stärksten (Tab. 3$_G$).

Nach 48 Std. haben sich alle Zellanteile den Kontrollwerten so sehr genähert, daß keine Signifikanz eintreten konnte.

Im Verhältnis zur Kontrolle ist nach 72 Std. der Anteil der Myelozyten in der Zusatzkultur angestiegen, der Anteil der Jugendlichen und Stabkernigen abgefallen. Letztere drei Veränderungen bedingen einen signifikanten χ^2-Wert (Tab. 3$_G$).

Erythropoese (Abb. 3b):

Gegenüber dem Originalausstrich findet sich bei der Kontrollkultur nach 24 Std. im wesentlichen eine Verminderung der reifen Erythroblasten, während die Anteile der anderen Zellformen nahezu gleichbleiben. Nach 48 Std. sind die Proerythroblasten, basophile und polychromatische Erythroblasten leicht vermindert, oxyphile und reife Erythroblasten leicht vermehrt, im 72-Std.-Präparat sind die reifen Erythroblasten auf ihren Ausgangswert vermehrt, der Anteil der oxyphilen Erythroblasten ist kleiner geworden.

Ohne Signifikanz gegenüber der Kontrollkultur sind bei der Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP sämtliche unreife Erythroblasten leicht vermehrt, wodurch die reifen Erythroblasten leicht abnehmen. Die gleichen Veränderungen in der 48-Std.-Kultur verursachen ebenfalls keinen signifikanten χ^2-Wert. Nach 72 Std. nähern sich die Kurven der Zusatzkulturen noch stärker den Kontrollwerten.

Zusammenfassung der Reifungskurven bei Monozytenleukämie (Fall 3):

1. Granulopoese:

0,1 mg% TPP hindert die Vermehrung der Myelocyten und fördert in der Granulopoese nach 24 Std. die Vermehrung der stabkernigen Granulozyten. Nach 72 Std. allerdings wird im Gegenteil eine unwesentliche Verminderung der stabkernigen und jugendlichen Granulozyten beobachtet und eine leichte Vermehrung der Myelozyten. Die Zusatzkultur von 48 Std. ergab keine signifikanten Veränderungen gegenüber den Kontrollkurven.

2. Erythropoese:

0,1 mg% TPP führt zu keinen signifikanten Veränderungen gegenüber den Kontrollkulturen.

Nebenbefund

Die bei der Monozytenleukämie hohe Zahl der Monozyten (Monozyten und Monoblasten wurden bei der Zählung zusammengefaßt) nimmt unter 0,1 mg% TPP in verschiedenem Ausmaß ab. Nach 24 und 72 Std. um mehr als 50 %, nach 48 Std. nur um 1 %.

	Kontrolle	Berolase
Original	30	
24 Std.	38	11
48 Std.	19	18
72 Std.	26	5

Fall 4

Granulopoese (Abb 4 a):

Gegenüber dem Originalausstrich findet sich bei der Kontrollkultur nach 24 Std. eine Vermehrung der Myelocyten sowie eine leichte Verminderung der jugendlichen, stabkernigen und segmentkernigen Granulozyten. Nach 48 Std. sind die Myeloblasten und Promyelozyten leicht vermehrt, während die Myelozyten und Stabkernigen wenig vermindert sind, wodurch die Segmentkernigen zunehmen.

Bei der Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP sind die Promyelozyten vermehrt, während im Gegensatz zu den Kontrollkulturen die Myelozyten unter TPP abnehmen, die jugendlichen Granulozyten zunehmen und die stabkernigen Granulozyten stärker als in der Kontrollkultur abnehmen. Der Anteil der Segmentkernigen entspricht dem Kontrollwert. Die Zunahme der Promyelozyten, die Abnahme der Myelozyten und Stabkernigen beeinflussen den signifikanten χ^2-Wert am stärksten (Tab. 4_G). Nach 48 Std. erreicht die Zusatzkultur die Kontrollwerte, die 72-Std.-Kultur konnte nicht ausgewertet werden.

Erythropoese:

Gegenüber dem Originalausstrich zeigt die Kontrollkultur nach 24 Std. eine Abnahme der polychromatischen Erythroblasten und Zunahme der reifen Erythroblasten. Nach 48 Std. nehmen im wesentlichen die oxyphilen Erythroblasten zu und die reifen leicht ab.

Bei der Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP werden nach 24 Std. die PE und oxyphilen Erythroblasten stärker als in der Kontrolle vermehrt. Die reifen Erythroblasten sind stark vermindert. Letztere Veränderung bestimmt den signifikanten χ^2-Wert (Tab. 4_E). Gegenüber der Kontrollkultur sind nach 48 Std. die basophilen Erythroblasten stark vermehrt und die

reifen Erythroblasten weiterhin vermindert. Beide Veränderungen bewirken die Signifikanz des χ^2-Wertes am stärksten (Tab. 4).

Zusammenfassung der Reifungskurven bei Lymphogranulomatose (Fall 4)

1. Granulopoese:

0,1 mg% TPP-Zusatz führt hier nach 24 Std. zu einer Vermehrung der teilungsfähigen Zellen, so daß die nicht teilungsfähigen vermindert werden. Im einzelnen fördert es die Vermehrung der Promyelozyten, während es die Vermehrung von Myelozyten und stabkernigen Granulozyten verhindert. Nach 48 Std. ergeben sich keine signifikanten Veränderungen.

2. Erythropoese:

0,1 mg% TPP hindert die Vermehrung reifer Erythroblasten und fördert besonders innerhalb von 48 Std. die Vermehrung der basophilen Erythroblasten.

Die Reifungskurven der Knochenmarkskulturen der nächsten drei Fälle:

Fall 5: bei Magencarcinom
Fall 6: bei Prostatacarcinom
Fall 7: bei Leberzellcarcinom

zeigen bei 72 Std. in vitro folgendes:

Granulopoese (Abb 5a, 6a, 7a):

Gegenüber den Originalausstrichen findet sich in den Kontrollserien nach 24 Std. eine Zunahme der Myeloblasten und Promyelozyten (Fall 5) bzw. der Myelozyten (Fall 6 und 7) und eine Abnahme der stabkernigen und segmentkernigen Granulozyten. In allen drei Fällen haben nach 48 Std. Myeloblasten und Promyelozyten abgenommen, die Anzahl der Myelozyten und Jugendlichen ist in Fall 5 und 7 gleichgeblieben, in Fall 6 haben sie leicht zugenommen. Die Anzahl der Stabkernigen ist bei Fall 5 und 7 zurückgegangen, während sie in Fall 6 leicht angestiegen ist, wodurch die Segmentkernigen vermehrt (Fall 5 und 7) bzw. vermindert (Fall 6) werden. Nach 72 Std. haben in Fall 5 die Promyelozyten und auch die Jugendlichen stark abgenommen, so daß die stab- und segmentkernigen Granulozyten relativ vermehrt sind, während in Fall 7 der Anteil der Myelozyten nochmals zugenommen hat, wodurch speziell die stabkernigen Granulozyten verringert sind, während auch hier die Segmentkernigen leicht erhöht sind.

Bei der Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP ist nach 24 Std. in Fall 5 und 6 die Abnahme der Stabkernigen und die Myelozytenvermehrung in Fall 6 stärker als in den Kontrollserien, während die Segmentkernigen im Gegensatz zu den Kontrollen in Fall 5 stark vermehrt sind. Die Abnahme der stabkernigen und Zunahme der segmentkernigen Granulozyten beeinflußt in Fall 5 (Tab. 5_G) die Signifikanz am stärksten. In Fall 6 wird sie durch die Zunahme der Myelozyten und die Abnahme der Stabkernigen bestimmt Tab. 6_G). Fall 7 zeigt auf 0,1 mg% TPP-Zusatz nach 24 Std. keine

Veränderungen gegenüber der Kontrolle. Nach 48 Std. fanden wir nach Zusatz von 0,1 mg% TPP in Fall 5 im Gegensatz zur Kontrolle eine Zunahme der Myeloblasten. Anders als in den Kontrollserien hat der Anteil der Stabkernigen in Fall 5 zugenommen, und auch in Fall 6 ist er stärker als in den Kontrollen angestiegen, während er in Fall 7 wie auch in den Kontrollserien zurückgeht. Dadurch sind die Segmentkernigen in Fall 5 gegenüber den Kontrollen vermindert, in Fall 7 vermehrt. In allen drei Fällen sind diese Veränderungen der Versuchskulturen gegenüber den Kontrollen nach 48 Std. nicht signifikant. Die Reaktionen der Knochenmarkkulturen nach 72 Std. sind für Fall 5 und 7 uneinheitlich. (In Fall 6 konnten in den 72 Std.-Präparaten nicht genügend Zellen differenziert werden.) Während zu diesem Zeitpunkt in Fall 5 Myeloblasten und Promyelozyten stark vermehrt sind und die stab- und segmentkernigen Granulozyten vermindert, sind in Fall 7 die Myelozyten stark vermindert und die letzteren vermehrt. Die Veränderungen sind in beiden Fällen deutlich signifikant. (Tab. 5_G, 7_G)

Die Zusatzkonzentration von 0,01 mg% TPP bei Fall 7 hat nach 24 Std., wie schon die höhere Konzentration, keinen signifikanten Einfluß auf die Granulopoese, obwohl es nach 48 Std. zu einer gegenüber den Kontrollen und der höheren Konzentration stärkeren Verminderung der Myelozyten und einer wie bei dem 0,1 mg%igem TPP-Zusatz beobachteten Vermehrung der segmentkernigen Granulozyten kommt. Nach 72 Std. fallen die Werte der Reifungskurven mit 0,01 mg%igem TPP mit denen der höheren Konzentration nahezu völlig zusammen. Die Verminderung der Myelozyten und Vermehrung der stab- und segmentkernigen Granulozyten bedingen zu diesem Zeitpunkt einen signifikanten χ^2-Wert, der dem der höheren Konzentration von 0,1%igem TPP entspricht. (Tab. 7_G)

Erythropoese (Abb. 5 b, 6 b, 7 b):

Gegenüber den Originalausstrichen zeigen die Kontrollkulturen nach 24 Std. in allen drei Fällen eine Abnahme der Proerythroblasten, basophilen und polychromatischen Erythroblasten

und eine Zunahme der oxyphilen und reifen Erythroblasten. Durch Abnahme aller anderen Zellformen sind nach 48 Std. die reifen Erythroblasten vermehrt. Nur in Fall 6 haben auch die oxyphilen Erythroblasten zugenommen. Nach 72 Std. bleibt in Fall 5 im wesentlichen die Zellzusammensetzung unverändert, während in Fall 7 eine rückläufige Bewegung stattfindet, wodurch die reifen Erythroblasten wieder etwas vermindert werden.

Bei der Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP findet sich nach 24 Std. in Fall 5 und 7 eine signifikante Vermehrung der polychromatischen Erythroblasten (Tab. 5_E, 7_E). Oxyphile (Fall 5 und 7) und reife Erythroblasten (Fall 5) haben abgenommen. Die Vermehrung der polychromatischen ist der stärkste Faktor in der Signifikanzrechnung. Fall 6 ergibt nach 24 Std. keine signifikanten Veränderungen. Nach 48 Std. sind bei der Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP in allen drei Fällen die reifen Erythroblasten signifikant vermindert, während die basophilen (Fall 5 und 6) bzw. die polychromatischen (Fall 7) vermehrt sind. Nach 48 Std. bestimmt besonders die Abnahme der reifen Erythroblasten die Signifikanz. Nach 72 Std. finden wir eine rückläufige Bewegung mit Angleichung an die Werte der Kontrollen bei Fall 5 und 7,für die, wie erwartet, keine Veränderungen errechenbar waren.

Die Zusatzkonzentration von 0,01 mg% TPP bewirkt ebenso wie die von 0,1 mg% TPP nach 24 Std. eine Vermehrung der polychromatischen Erythroblasten, nur sind diese Veränderungen gegenüber der Kontrollserien zu schwach, um einen signifikanten χ^2-Wert zu verursachen. Nach 48 Std. sind die polychromatischen Erythroblasten stärker als unter der höheren Konzentration vermehrt, wodurch die reifen Erythroblasten wie unter 0,1 mg% stark abnehmen. Durch Angleichung an die Werte der Kontrolle ergibt sich nach 72 Std. keine errechenbare Veränderung.

Zusammenfassung der Reifungskurven bei Carcinomen (Fälle 5 - 7):

Granulopoese

1. 0,1 mg% TPP hemmt nach 24 Std. signifikant die Vermehrung der Stabkernigen (Fall 5 und 6) und fördert in Fall 5 die Vermehrung der segmentkernigen Granulozyten. Fall 7 zeigt nach 24 Std. keine signifikanten Veränderungen. Nach 48 Std. hat 0,1 mg% TPP in allen Fällen keinen signifikanten Effekt, nach 72 Std. unterschiedlichen Effekt auf die Granulopoese.

2. 0,01 mg% TPP zeigt nach 24 und 48 Std. keinen signifikanten Einfluß auf die Granulopoese. Nach 72 Std. sind die Veränderungen auf die Reifungskurven identisch mit denen von 0,1 mg% TPP.

Erythropoese

1. 0,1 mg% TPP fördert die Vermehrung von basophilen und polychromatischen Erythroblasten und hemmt besonders nach 48 Std. die Vermehrung reifer Erythroblasten.

2. 0,01 mg% TPP zeigt der höheren Konzentration gleichgerichtete, aber geringere Veränderungen auf die Erythropoese, die jedoch nur im 48 Std.-Präparat einen signifikanten χ^2-Wert ergeben.

Die Reifungskurven der Knochenmarkkulturen der Patienten bei sideroachrestischer Anämie (Fall 8 und 9) zeigen folgendes:

Granulopoese (Abb. 8 a und 9 a):

Im Fall 8 sind gegenüber dem Originalausstrich nach 24 Std. in den Kontrollkulturen die Myeloblasten, Promyelozyten und Stabkernigen leicht vermindert, wodurch es zu einer relativen Vermehrung der segmentkernigen Granulozyten kommt. Zum gleichen Zeitpunkt findet sich in den Kontrollserien von Fall 9 eine Vermehrung von Myeloblasten, Promyelozyten und Myelozyten gegenüber dem Originalausstrich, in welchem nur die Myeloblasten und Promyelozyten vermehrt sind. Während sich in Fall 8 nach 48 Std. die Zellzusammensetzung nicht verändert, haben sich in Fall 9 im wesentlichen die Myeloblasten und Promyelozyten vermindert und die stabkernigen Granulozyten zugenommen. Nach 72 Std. nehmen in Fall 8 durch Myelozytenvermehrung die segmentkernigen Granulozyten ab. Ebenso werden die Myelozyten in Fall 9 vermehrt und die segmentkernigen Granulozyten sowohl im 48- als auch im 72-Std.-Präparat leicht vermindert. Die unreifen Zellformen nehmen im ganzen gesehen in Fall 9 ab, die Segmentkernigen haben weiterhin zugenommen. Die Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP bewirkte nach 24 Std. gegenüber den Kontrollen in beiden Fällen eine Vermehrung der Myelozyten. Während in Fall 8 die Myeloblasten gegenüber den Kontrollen stark vermehrt und die Stabkernigen vermindert sind, zeigt Fall 9 entgegengesetzte Verhältnisse. Der signifikante χ^2-Wert wird nach 24 Std. unter 0,1 mg% TPP-Zusatz in Fall 8 (Tab. 8_G) durch die Zunahme der Myeloblasten und in Fall 9 (Tab. 9_G) durch die Vermehrung der Stabkernigen und die Verminderung der Promyelozyten am stärksten verändert.

Nach 48 Std. nähern sich in Fall 8 die Werte der Zusatzkulturen denen der Kontrollkulturen und ergeben so keine signifikanten Veränderungen. In Fall 9 erreichen Myelozyten und Promyelozyten durch leichte Vermehrung etwa die Kontrollwerte. Die Myelozyten

bleiben unter dem Zusatz unverändert vermehrt, die jugendlichen Granulozyten vermindert. Die Stabkernigen haben leicht zugenommen, und die Segmentkernigen sind vermehrt. Der signifikante χ^2-Wert (Tab. 9_G) der Versuchskulturen nach 48 Std. ist kleiner als die gefundene Signifikanz nach 24 Std.. Er wird hauptsächlich von der Verminderung der jugendlichen Granulozyten und Vermehrung der Segmentkernigen gebildet.

Im 72-Std.-Versuch zeigt Fall 8 wie nach 48 Std. keine signifikante Veränderung der Zusatzkulturen gegenüber den Kontrollen (Tab. 8_G). In Fall 9 werden die teilungsfähigen Zellen bis zu den Kontrollwerten verringert. Die stab- und segmentkernigen Granulozyten aber haben weiterhin stark zugenommen. Myelozytenverminderung und Vermehrung der Segmentkernigen verändern die Signifikanz am stärksten, die weiterhin unter die des 48-Std.-Präparates abfällt.

Die Zusatzkonzentration von 0,01 mg% TPP in Fall 8 führt nach 24 Std. zwar zu keiner Myeloblastenvermehrung wie bei 0,1 mg% TPP, wohl aber ebenfalls zur Myelozytenvermehrung und Abnahme der stabkernigen Granulozyten. Die Veränderung ist signifikant, aber geringer als die der 0,1%igen Zusatzkultur (Tab. 8_G).

Wie bei der stärkeren Konzentration fallen die Werte der Zusatzkulturen von 0,01 mg% TPP nach 48 Std. mit den Kontrollwerten zusammen und ergeben auch nach 72 Std. keine signifikante Veränderung gebenüber den Kontrollen.

Erythropoese (Abb. 8 b und 9 b)

Gegenüber den linksverschobenen Originalausstrichen findet sich in den Kontrollkulturen nach 24 Std. in Fall 8 eine Verminderung der Proerythroblasten und Vermehrung der basophilen und reifen Erythroblasten, während in Fall 9 die basophilen Erythroblasten abnehmen und polychromatische und oxyphile nur unwesentlich vermehrt sind. Nach 48 Std. haben in Fall 8 die basophilen

Erythroblasten abgenommen und die oxyphilen zugenommen, in Fall 9 sämtliche unreifen Erythroblasten abgenommen und die reifen stark zugenommen. Nach 72 Std. ist in beiden Fällen der Anteil der teilungsfähigen Zellen kleiner geworden, wodurch sich der der reifen Erythroblasten leicht bzw. stark vermehrt hat.

Bei der Zusatzkonzentration von 0,1 mg% TPP sind nach 24 Std. gegenüber den Kontrollen in Fall 8 besonders die Proerythroblasten, in Fall 9 die basophilen und polychromatischen Erythroblasten vermehrt, die reifen Erythroblasten in beiden Fällen verringert. Diese Veränderungen beeinflussen die signifikanten χ^2-Werte (Tab. 8_E und 9_E) am stärksten.

Nach 48 Std. haben sich in Fall 8 die reifen Erythroblasten stärker vermehrt, während sie in Fall 9 gegenüber den Kontrollen bei Vermehrung der oxyphilen Erythroblasten vermindert sind. Diese Veränderungen bewirken die signifikanten χ^2-Werte (Tab.8_E und 9_E). In Fall 8 sind außerdem gegenüber den Kontrollwerten die Polychromatischen leicht erhöht und die Oxyphilen leicht vermindert.

Nach 72 Std. fallen in beiden Fällen die Werte der Zusatzkulturen annähernd mit denen der Kontrollkulturen zusammen und ergeben damit keinen signifikanten χ^2-Wert.

Bei der Zusatzkonzentration von 0,01 mg% TPP findet sich in Fall 8 nach 24 Std. im Gegensatz zur höheren Konzentration eine Verminderung der Proerythroblasten gegenüber den Kontrollen, während schon die polychromatischen und auch die oxyphilen stark vermehrt sind und die reifen Erythroblasten vermindert. Diese Veränderungen verursachen den signifikanten χ^2-Wert (Tab. 9_E), der höher als nach 0,1 mg% TPP ist. Nach 48 Std. ist im Vergleich zu den Kontrollen und wie bei der stärkeren Konzentration eine Verminderung der oxyphilen Erythroblasten und Vermehrung der reifen eingetreten. Diese Veränderungen ergeben eine im Verhältnis zur höheren Konzentration geringere Signifikanz (Tab. 9_E).

Nach 72 Std. sind die reifen Erythroblasten in einer rückläufigen Bewegung gegenüber den Kontrollen signifikant vermindert.

Zusammenfassung der Reifungskurven bei sideroachrestischer Anämie (Fall 8 und 9)

1. Granulopoese:

Fall 8: Beide Konzentrationen vermindern die stabkernigen Granulozyten nach 24 Std. in vitro und fördern die Vermehrung der Myelozyten. 0,1 mg% TPP regen nach 24 Std. in vitro die Vermehrung der Myeloblasten besonders stark an, was nach 0,01 mg% TPP nicht feststellbar ist. Nach 48 und 72 Std. ergeben sich keine signifikanten Veränderungen. Die schwächere Konzentration von 0,01 mg% TPP hat den geringeren, aber ebenfalls gleichgerichteten Effekt auf die Granulopoese wie 0,1 mg% TPP.

Fall 9: 0,1 mg% TPP-Zusatz hemmt die Vermehrung der teilungsfähigen Granuloblasten nach 24 Std. und fördert die Vermehrung der nicht teilungsfähigen Granulozyten nach 48 und 72 Std..

2. Erythropoese:

Fall 8:

a) Der Effekt von TPP auf die Erythropoese ist zwar für beide Konzentrationen gleichgerichtet, zu den einzelnen Kulturzeiten aber uneinheitlich. Nach 24 Std. hemmen beide Konzentrationen die Vermehrung der reifen Erythroblasten. 0,1 mg% TPP fördert die Vermehrung der Proerythroblasten und oxyphilen Erythroblasten, 0,01 mg% TPP hemmt die Vermehrung der Proerythroblasten und fördert die Vermehrung sowohl polychromatischer als auch oxyphiler Erythroblasten. Nach 48 Std. haben beide Konzentrationen den Anteil reifer Erythroblasten vermehrt und die Bildung oxyphiler Erythroblasten gehemmt. Nach 72 Std. verändert 0,1 mg% TPP die Erythropoese nicht signifikant. 0,01 mg% TPP hemmt wiederum die Vermehrung reifer Erythroblasten.

b) Nach 24 und 72 Std. erzielt die schwächere Konzentration die signifikantere Wirkung, während im 48-Std.-Präparat die schwächere Konzentration auch die geringere Signifikanz erzielt.

Fall 9: 0,1 mg% TPP fördern die Vermehrung der basophilen und polychromatischen Erythroblasten im 24-Std.-Präparat und hemmen die Vermehrung der reifen Erythroblasten im 48-Std.- und 72-Std.-Präparat.

Tabelle 10

b) Mitoseindices (in Promille ausgedrückt)

Granulopoese

	Original-ausstrich	Kontrolle 24 Std.	Kontrolle 48 Std.	Kontrolle 72 Std.	0,1 mg% TPP 24 Std.	0,1 mg% TPP 48 Std.	0,1 mg% TPP 72 Std.
Fall 1	23	10	9	20	18	25,5	19,8
Fall 2	25	16,5	4,7	-	20	5,2	-
Fall 3	25	21,5	7,1	9,5	43	4,2	21
Fall 4	9,5	17,6	11,8	-	13,6	18	--
Arithmet. Mittel	20,6	16,4	8,1	7,4	23,6	13,2	10,2

Erythropoese

	Original-ausstrich	Kontrolle 24 Std.	Kontrolle 48 Std.	Kontrolle 72 Std.	0,1 mg% TPP 24 Std.	0,1 mg% TPP 48 Std.	0,1 mg% TPP 72 Std.
Fall 1	29,5	15	19,6	40	12	31,2	19
Fall 2	23	17,8	35	-	17,5	10,5	-
Fall 3	32	17	30	25	22,8	21	17,6
Fall 4	8,2	39	9,6	-	30,7	22	-
Arithmet. Mittel	22,2	22,2	23,5	16	20,7	21,2	9,1

Fortsetzung der Tabelle 10

Granulopoese

		Kontrolle			0,1 mg% TPP			0,01 mg% TPP		
	Original-ausstrich	24 Std.	48 Std.	72 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
Fall 5	30,7	19	10	0	16,6	14,2	2,6			
Fall 6	9	7,5	16	-	18	9	-			
Fall 7	12,8	4,4	6,2	17	4,7	10,2	9,6	9	4,4	15
Arithm. Mittel	17,5	10,3	10,7	5,7	13,1	11,3	6,0	9	4,4	15

Erythropoese

		Kontrolle			0,1 mg% TPP			0,01 mg% TPP		
	Original-ausstrich	24 Std.	48 Std.	72 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
Fall 5	13,8	11,5	21	0	23	29	43,5			
Fall 6	28	36	6,2	-	2	18	-			
Fall 7	17,3	7,7	21,6	0	9,5	14,7	0	8,5	0	0
Arithm. Mittel	19,7	18,4	16,3	0	11,3	20,6	21,7	8,5	0	0

Granulopoese

		Kontrolle			0,1 mg% TPP			0,01 mg% TPP		
	Original-ausstrich	24 Std.	48 Std.	72 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
Fall 8	15	26,6	8,1	18	10	0	11,3	5	7,5	14
Fall 9	19,6	6,9	9	8	22	13	11			
	17,3	16,7	8,5	13	16	6	11,1			

Erythropoese

		Kontrolle			0,1 mg% TPP			0,01 mg% TPP		
	Original Ausstrich	24 Std.	48 Std.	72 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.	24 Std.	48 Std.	72 Std.
Fall 8	34,6	21,6	18,4	31,3	23	0	0	12,7	26	4,9
Fall 9	19	6,4	19	22	18,3	6,4	7,9			
	26,8	13,5	18,7	23,3	20,3	3,2	3,9			

Die Betrachtung der gefundenen Mitoseindices ergibt folgendes (siehe Tabelle 10):
Bei der Zusammenfassung aller untersuchten Mitoseindices ergeben sich in der Granulopoese von Fall 1-7 sowohl nach 0,1 mg% TPP als auch nach 0,01 mg% TPP-Zusatz in den meisten Fällen höhere Mitoseindices als in den Kontrollen. Für Fall 1-7 liegen die arithmetischen Mittel der Mitoseindices in der Granulopoese sämtlich über den Kontrollen. In Fall 8 und 9 dagegen findet sich ein Rückgang der Mitoseindices unter beiden Konzentrationen von TPP.

In der Erythropoese bewirkt TPP-Zusatz in Fall 1-9 im arithmetischen Mittel gesehen mit Ausnahmen niedrigere Mitoseindices als in den Kontrollen.

Sowohl in der Granulopoese als auch in der Erythropoese erreicht 0,1 mg% TPP in den meisten Fällen höhere Mitoseindices als 0,01 mg% TPP.

Für die Unterschiede in der Mitosehäufigkeit zwischen Zusatz- und Kontrollkulturen wurde die Fehlerrechnung nach dem t-Test (wiss. Tabellen J.R. Geigy 1955) ausgeführt. Dabei ergab sich im Reihenvergleich für den mittleren Fehler keine Signifikanz. Die Berechnung wird deshalb hier nicht angeführt.

c) Aus den karyologischen Kurven (Abb. 10) der Mitosephasenverteilung von 326 gezählten Mitosen ist folgendes zu erkennen:

Wegen der kleinen Zahlen wurden alle Zusatz-Kulturen zusammengefaßt.
Sie ergaben in der

Granulopoese: 85 Mitosen und in der
Erythropoese: 88 Mitosen.

Die Kontrollkulturen ergaben für die

Granulopoese: 78 Mitosen und in der
Erythropoese: 75 Mitosen.

Bei der zeichnerischen Darstellung wurden folgende Abkürzungen verwandt:

P	=	Prophase	A	=	Anaphase
FM	=	frühe Metaphase	T	=	Telophase
SM	=	späte Metaphase	R	=	Rekonstruktionsphase.

_____ Kontrollkulturen

'-.-.-.-.-.-.-.-.-.-.Kulturen mit TPP-Zusatz

Die karyologische Kurve der Granulopoese ohne TPP-Zusatz beginnt mit 21,9 % Prophasen, fällt auf 20,5 % frühe Metaphasen ab und steigt auf 46 % späte Metaphasen an. Dann fällt sie über 10,2 % Anaphasen und 1,3 % Telophasen auf 0 % Rekonstruktionsphasen ab.

Unter TPP-Zusatz sind die Prophasen etwas vermehrt (29,5 %). Das bedeutet gegenüber den Kontrollen einen Anstieg um 7,7 %. Die frühen Metaphasen liegen mit 23,5 % um 3 % über dem entsprechenden Kontrollwert, während die späten Metaphasen (37,6) und Anaphasen (4,7) um 8,4 % bzw. um 5,5 % darunter liegen. Telophase (3,5 %) und Rekonstruktionsphase (1,2 %) sind gegenüber den Kontrollwerten leicht angehoben.

In der Erythropoese der Kontrollkulturen liegt der Beginn der karyologischen Kurve bei 32 % Prophasen und fällt auf 24 % frühe Metaphasen an. Die späten Metaphasen steigen auf 29,4 % an. Die karyologische Kurve fällt zunächst auf 1,3 % Anaphasen ab, steigt in den Telophasen auf 7,9 % an und endet bei 5,7 % in den Rekonstruktionsphasen.

In den TPP-Zusatzkulturen entspricht der Prophasenwert mit 32 % dem der Kontrollen. Die frühen Metaphasen der Kulturen (18,2 %) sind gegenüber den Kontrollen um 5,8 % geringfügig vermindert. Ebenso liegt der Wert der späten Metaphasen der Kulturen (22,7) um 6,7 % unter dem Kontrollwert, während er in den Anaphasen (4,6 %), Telophasen (10,6 %) und Rekonstruktionsphasen jeweils über den Werten der Kontrollen liegt.

In Zusammenfassung der karyologischen Kurven ergibt sich keine Hemmung in einer Mitosephase. Die Vermehrung der Prophase in der Granulopoese und die Verminderung der späten Metaphasen in sowohl Granulopoese als auch Erythropoese sowie das vermehrte Auftreten von Rekonstruktionsphasen in der Erythropoese sind, da die Unterschiede zu den Kontrollen klein sind, sicherlich ohne Bedeutung.

d) Die Aufstellung des G/E Index - des Verhältnisses von Granulopoese zu Erythropoese - ergibt folgendes:

Tabelle 11

G/E Index

	Original-ausstrich	Kontrolle 24 Std.	48 Std.	72 Std.	0,1 mg% TPP-Zusatz 24 Std.	48 Std.	72 Std.
Fall 1	3,3	0,5	0,7	2,4	1	3	1,4
Fall 2	2,7	0,7	2,4	---	1	0,7	---
Fall 3	4,1	2	1,2	1,06	0,9	1,06	1,1
Fall 4	5,0	2,6	3,2	---	3,5	3,4	---
Fall 5	3	1,8	2	4,6	1,1	1	7,7
Fall 6	1,5	1,5	2,5	---	0,3	0,5	---
Fall 7	2,8	0,7	3,4	2,5	0,6	0,6	2,4
Fall 8	5,6	2,17	3,5	1,3	1	2,3	7,3
Fall 9	1,2	1	1,9	0,6	0,8	0,9	1,7
arithm. Mittel	3,24	1,44	2,71	2,07	1,13	1,49	2,4

0,01 mg% TPP-Zusatz 24 Std.	48 Std.	72 Std.
0,6	1,6	0,6
2,18	1,5	1,4
1,39	1,55	1,o

Der G/E Index der Originalausstriche entspricht in den meisten Fällen der Normopoese (Fall 2-3). Im Fall 9 (sideroachrestische Anämie) und Fall 7 (Prostatacarcinom mit Blutungsanämie) ist er wegen der geringeren Granulopoese bzw. der angeregteren Erythropoese klein, in Fall 4 (Lymphogranulomatose) und Fall 8 (sideroachrestische Anämie) wegen der Leukozytose und Erythrozytopenie hoch. Die Verminderung der teilungsfähigen Erythroblasten im 72-Std.-Präparat von Kontrollen und Kulturen bei Fall 5 ist eine scheinbare, da der G/E-Index gleichzeitig deutlich erhöht wird. Ein Effekt durch TPP ist nicht verantwortlich zu machen.

Zusammenfassend läßt sich sagen, daß beim G/E-Index in vitro unter TPP im Verhältnis zu den Kontrollen keine einheitlichen Veränderungen vorliegen. Nach 48 Std. liegen die G/E-Indices in nahezu allen Fällen bei TPP-Zusatz unter denen der Kontrollen. Da jedoch keine Signifikanz errechenbar ist, wird die Berechnung nicht angefügt.

Stärker als unter 0,1 mg% gleichen die Indices unter der geringeren Konzentration von 0,01 mg% TPP denen der Kontrollen.

E. Zusammenfassung der Ergebnisse

Betrachten wir die Beeinflussung des Knochenmarks in vitro während dreier Tage, so finden sich folgende Veränderungen unter Thiaminpyrophosphat(TPP)-Zusatz.

Tabelle 12

Fall	Diagnose	Granulobl. reifung	Regeneration (Mi)	Erythrobl. reifung	Regeneration (Mi)	G/E n.48
1	Retikulose	unveränd.	vermehrt	unveränd.	unveränd.	unverär
2	Retikulose	gebremst	vermehrt	unveränd.	unveränd.	erniedr
3	Monozyten-leukämie	gebremst	vermehrt	gebremst	unveränd.	unverär
4	Lymphogra-nulomatose	normalis.	vermehrt	gebremst	unveränd.	unverär
5	Magen-carcinom	unveränd.	geringfü-gig erhöht	gebremst	vermehrt	erniedr
6	Prostata-carcinom	unveränd.	geringfü-gig erhöht	gebremst	unveränd.	erniedr
7	Leber-carcinom					
	0,1 mg%TPP	unveränd.	geringfü-gig erhöht	gebremst	unveränd.	erniedr
	0,01 mg%TPP	unveränd.	unveränd.	gebremst	unveränd.	erniedr
8	sidero-achrest. Anämie					
	0,1 mg%TPP	vermehrt	unveränd.	gebremst	unveränd.	erniedr
	0,01 mg%TPP	vermehrt	unveränd.	gebremst	unveränd.	erniedr
9	sidero-achrest. Anämie	vermehrt	vermehrt	gebremst	unveränd.	erniedr

I.

a) In der Granulopoese der Systemerkrankungen (Fall 1-4, Tab. 12) bewirkt TPP in sämtlichen Fällen eine - wenn auch nicht signifikante - Regenerationsstimulierung. Eine Mitosehemmung als Ursache des Anstieges der Mitoseindices (Tab. 10) ist auf Grund der karyologischen Kurven (Abb. 10) nicht anzunehmen. Eine gleichzeitige Verschiebung zugunsten der teilungsfähigen Granuloblasten tritt nur in der Reifungskurve der Lymphogranulomatose auf (Abb. 4a), bedeutet also eine Proliferationsanregung und ist von späterer Ausreifung gefolgt. Da bei den Retikulosen (Fall 1+2) und der Monozytenleukämie (Fall 3) die Reifung unverändert bzw. gebremst ist (Abb. 1a - 3a), liegt in diesen Fällen keine Proliferationsanregung, sondern nur eine Stimulierung der Regeneration durch TPP vor.

b) Betrachten wir die direkte Beeinflussung der Granulopoese bei Carcinomen (Fall 5-7) während dreier Tage in vitro, so ergibt sich, daß TPP die Regeneration hier nur geringfügig anregt (Tab. X). Eine Mitosehemmung ist auf Grund der karyologischen Kurven (Abb. 10) auszuschließen. Nach den Reifungskurven (Abb. 5a - 7a, Tab. 12) ist keine Zunahme der teilungsfähigen Granuloblasten zu beobachten. Da die Reifung bei leichter Regenerationsstimulierung unverändert ist, liegt keine Proliferationsanregung vor.

Auch unter 0,01 mg% TPP findet keine Stimulierung der Proliferatio statt: der Mitoseindex (Tab. 10) bleibt ebenso wie die Reifung (Abb. 8a) unverändert.

c) In der Granulopoese bei den sideroachrestischen Anämien (Fall 8+9) ist anders als in den übrigen Fällen eine Reifungsbeschleunigung in den Reifungskurven (Abb. 8a + 9a) deutlich. Da in Fall 9 gleichzeitig die Mitoseindices (Tab. 10) erhöht sind, liegt in diesem Fall eine echte Proliferationsanregung durch TPP auf die Granulopoese vor. In Fall 8 dagegen ist unter TPP nur eine Reifungsstimulierung zu beobachten. Die Vermehrung teilungsfähiger Granuloblasten unter TPP nach 24 Std. - die entgegen der Norm (Fall 5) in den Kontrollkulturen von Fall 8 bei zusätzlicher renaler

Insuffizienz auftritt - kann, da der Mitoseindex gleichzeitig abfällt (Tab. 10), nur als Stimulierung der Reifung, nicht der gesamten Proliferation gedeutet werden. Nur bei Lymphogranulomatose und sideroachrestischer Anämie wirkt TPP proliferationsanregend auf die Granulopoese.

II.

a) In der Erythropoese des Knochenmarks bei Systemerkrankungen findet sich, daß die Proliferation der Retikulose (Fall 1+2) (Abb. 1b und 2b) durch TPP nicht beeinflußt wird. Die in Fall 2 (Abb. 2b) auftretende Vermehrung reifer Erythroblasten nach 24 Std. bedeutet sicherlich keine echte Reifungsbeschleunigung durch TPP. Der Ausgleich nach 48 Std. und der nicht angestiegene G/E Index spricht eher für einen Zufall. Vielleicht liegt hier - wie auch in Fall 3 und 4 am 3.Tag - schon am 1. Tag eine Entkernungsbehinderung durch TPP vor, die sich später ausgleicht. Bei der Monozytenleukämie (Fall 3, Abb. 3b) und der Lymphogranulomatose (Fall 4, Abb. 4b) ist unter TPP eine Zunahme teilungsfähiger Erythroblasten zu beobachten. Da die Mitoseindices jedoch unverändert sind (Tab. 10), liegt nur eine Reifungshemmung der Erythroblasten unter TPP vor. Die Verschiebung am 3. Tag zugunsten der reifen Erythroblasten hat ihren Grund wohl darin, daß die in den 2 Tagen gebildeten, teilungsfähigen Erythroblasten doch noch ausreifen. Gegen eine vermehrte Entkernung der reifen Erythroblasten unter TPP spricht der G/E-Index (Tab. 11), der nur minimal ansteigt.

b) In der Erythropoese von carcinomgeschädigtem Knochenmark (Fall 5-7) finden sich unter TPP keine eindeutigen Veränderungen in der Regeneration (Tab. 10 u. 12). Nur in Fall 5 (Magencarcinom) ist der Mitoseindex im Sinne einer Regenerationsstimulierung erhöht. Eine Mitosehemmung ist auf Grund der karyologischen Kurven nicht anzunehmen.

Da die Mitoseindices in Fall 6+7 (Tab. 10) nicht erhöht sind, muß erwogen werden, ob die Linksverschiebung der Reifungskurven hier auf einer Kernreifungsstörung der Erythroblasten beruht. Bis 48 Std. ist die Reifung nach den linksverschobenen Reifungskurven (Abb. 5b - 7b) und dem fehlenden Anstieg des G/E Index verzögert. Am 3. Tag reifen offensichtlich die in vitro durch Teilung neu gebildeten Erythroblasten in allen Fällen verstärkt zum reifen Erythroblasten aus. Gegen eine vermehrte Entkernung zum Erythrozyten spricht neben den linksverschobenen Reifungskurven der erniedrigte G/E Index (Tab. 11).

c) Die Erythropoese bei sideroachrestischer Anämie ist gemäß den Beobachtungen von B o l l (8) an Knochenmarkkulturen ohne TPP-Zusatz in unseren Kontrollkulturen linksverschoben, der Mitoseindex ist bis auf das Doppelte der normalen Werte (um 15 %) angestiegen. Die Kulturen mit TPP behalten einen relativ hohen Mitoseindex (im Gegensatz zu den Fällen von B o l l) bis 72 Std. als Zeichen der bei diesem Krankheitsbild verstärkten Regeneration. Die von B o l l beobachtete maximale Ausreifung der Erythroblasten bei sideroachrestischer Anämie ist nur in einem Fall (Fall 9) ausgeprägt. Der G/E Index ist hingegen in beiden Fällen sehr uneinheitlich. Unter TPP-Zusatz ist nach den linksverschobenen Reifungskurven (Abb. 8b und 9 b) und dem gesenkten G/E Index (Tab. 11 und 12) die Reifung gebremst. Die Regeneration ist nach dem abfallenden Mitoseindex (Tab. 10) vermindert, so daß die Linksverschiebung durch TPP nach 24 Std. in Fall 8 und nach 48 Std. in Fall 9 sicherlich ihre Ursache in einer Kernreifungsstörung hat. Nach 72 Std. nähern sich die Reifungskurven den Kontrollen, nunmehr scheint die Reifung zu überwiegen. Der jedoch fehlende Anstieg des G/E Index (Tab. 11) spricht allerdings mehr für eine Behinderung der Entkernung als Ursache der Vermehrung reifer Erythroblasten.

Auf die Erythropoese übt TPP bei allen untersuchten Fällen eine gewisse Proliferationshemmung aus: die Reifung wird gebremst, die Regeneration bleibt außer beim Magencarcinom unverändert.

F. Diskussion

Untersuchungen über die Einwirkungen von Thiaminpyrophosphat auf das menschliche Knochenmark sind uns weder in vivo noch in vitro bekannt. In der Literatur wird nur eine günstige Wirkung auf das Wachstum von Geweben in vitro (L a s f a r g u e s [15]) und eine Aktivierung des Stoffwechsels durch TPP-Zusatz für Gewebe beschrieben, die entweder schnell wachsen - wie Gewebe neugeborener Ratten oder Tumorgewebe (K i e s s l i n g [14]) - oder ein Thiamindefizit haben (B a l a g h i [2], B r i n [9], G r a s s m a n n [13]). Auch beim Knochenmark handelt es sich um ein schnell wachsendes Gewebe mit noch höherer Proliferationsaktivität als Tumorgewebe (B o l l [5]), und die Vermutung, daß es unter pathologischen Bedingungen ein TPP-Defizit bekommt, ist naheliegend, da B r i n [9] ein solches schon für die normalen Erythrozyten im peripheren Blut sichern konnte. Andererseits sind die kernlosen Erythrozyten keine vollständigen Zellen mehr, weswegen sie vielleicht in ein Defizit an TPP geraten können.

Angeregt durch die vorgenannten Beobachtungen, daß in anderen Geweben eine Stoffwechselsteigerung durch TPP - gemessen am vermehrten Auftreten von Stoffwechselendprodukten - möglich ist, versuchen wir durch Zugabe von TPP den Stoffwechsel von Knochenmark anzuregen bzw. zu normalisieren und messen die Stoffwechselleistung an der Proliferation seines Zellmaterials.

Die TPP-Sättigung des Blutes der Patienten und somit die des Knochenmarkes ist unbekannt. Bei gesunden Patienten liegt die physiologische Konzentration bei 0,01 mg% TPP, bei Kranken ist sie vermutlich niedriger. Daher ist schon der Zusatz von 0,01 mg% TPP gegen die Ausgangswerte und die Kultur ohne TPP-Zusatz wahrscheinlich eine leichte Vermehrung. 0,1 mg% TPP ist diejenige Dosis, von der wir wissen, daß sie beim Menschen einen

therapeutischen Effekt hat. Deshalb wurde der größte Teil unserer untersuchten Kulturen auf diese Konzentration gebracht.

Zunächst wurden die Erkrankungen des Retikuloendothels herausgegriffen. Dieses mesenchymale Gewebe im Knochenmark ist postnatal die Matrix für Erythro-, Granulo- und Thrombopoese. Auch die Lymphopoese entstammt dem Retikulum, findet sich aber vorwiegend im Lymphknoten und im lymphatischen System der Schleimhäute.

Alle Störungen im Knochenmark wirken sich entweder an der Grundstruktur, in allen drei Blutzellsystemen gleichzeitig oder partiell an einem System aus. Die Grundstruktur ist betroffen bei den Retikulosen (Fall 1 und 2). Hier handelt es sich um eine Wucherung undifferenzierter Retikulumzellen. Gleichzeitig können außerdem Retikulumzellen zu Monozyten ausdifferenzieren, als Variante der Retikulose entsteht die Monoblastenleukämie (Fall 3). Bei der Lymphogranulomatose (Fall 4) tritt neben der Retikulumzellwucherung auch eine Entartung zu Sternbergschen Riesenzellen auf. Diese wichtigste Erkrankung des RES führt zur Entwicklung eines eigenartigen Granulationsgewebes, das histologisch dem Bild entzündlicher Granulationen ähnelt. Seine Neigung zu herdförmigen Nekrosen läßt die Ähnlichkeit mit echten Geschwülsten deutlich werden. Zunächst befällt die Lymphogranulomatose nur die Lymphknoten. Die Knochenmarkserscheinungen sind sekundär. M o e s c h l i n[16] ist sogar der Auffassung, daß sich die Symptome der Knochenmarkstörung nicht aus gleichartigen Störungen wie im Lymphknoten - also als Metastasen - erklären lassen, sondern daß zum Beispiel die Eosinophilie, Immunozytopenie und die starke Vermehrung der Plasmazellen auf eine Sensibilisierung gegen Tumorparaproteine aus den Hodgkin-Zellen zurückzuführen ist. Gleichgültig, welche Auffassung man vertreten mag, betrachten wir im Knochenmark auf jeden Fall nur die Zweitkrankheit.

Geleitet von der Geschwulstähnlichkeit der Lymphogranulomatose untersuchen wir als Nächstes die Knochenmarksstimulation durch

TPP bei echten Geschwülsten. Die Grundkrankheit der nächsten drei Fälle (Fall 5-7) sind die Carcinome. Gerade diese haben eine besondere Affinität zur Blutbildung, die evtl. ebenfalls immunologischer Art ist.

Als Letztes (Fall 8 u 9) wird eine Erkrankung speziell des erythropoetischen Systems, die sideroachrestische Anämie, gewählt. Im Fall 8 besteht gleichzeitig eine renale Insuffizienz. Richtlinien für die Beurteilung der Proliferation aus Differentialzählungen gibt B o l l [5, 7]. Unter Proliferation verstehen wir das Zusammenspiel von Reifung und Regeneration. Die Zellreifung gliedert sich in eine Reifung während der regenerativen Phase und eine Reifung nach der letzten Mitose. Die Regeneration - bzw. die Zellteilung, Karyokinese oder Mitose - hat als Ergebnis zwei teilungsfähige gleichwertige Zellen. Bei Vermehrung der Mitosen, im fixierten Präparat als gezählter Mitoseindex, muß eine Mitosehemmung durch Darstellung der karyologischen Kurve ausgeschlossen werden. In vivo hat die Aufzeichnung der prozentualen Anteile der einzelnen haematopoetischen Vorstufen insofern nur wenig Aussagewert über die Proliferation, als die Verschiebung der Zellzusammensetzung im Knochenmark außer von der Proliferation von der unkontrollierbaren Ausschwemmung reifer Zellen ins Blut abhängt. Die Reifungskurven der Knochenmarkkulturen hingegen haben nur mit der Unbekannten "Zelltod" zu rechnen.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß TPP-Zusatz nur die Proliferation der Granulopoese der sideroachrestischen Anämie und die der Lymphogranulomatose anregt. Bei Retikulosen und einer Monozytenleukämie wird allein die Regeneration der Granulozyten, wenn auch nicht signifikant, angeregt. Keinen Effekt auf die Granulopoese hat TPP-Zusatz bei Carcinomen. Ebensowenig wird in sämtlichen untersuchten Fällen die Proliferation der Erythropoese stimuliert. Bei der Erythropoese zeichnet sich vielmehr eine Reifungsstörung unter TPP ab. Dafür spricht neben der Linksverschiebung der Reifungskurven bei unveränderten Mitoseindices auch der allerdings nicht signifikante Abfall des G/E-Index.

Wir haben die Stoffwechselleistung an Differentialzählungen des Zellmaterials gemessen, daraus Mitose- und G/E-Indices berechnet und die Reifungs- und karyologischen Kurven gezeichnet. Entgegen den Beobachtungen von K i e s s l i n g [14], B a l a g h i [2], B r i n [9] und G r a s s m a n n [15], nach denen in anderen Geweben eine Stoffwechselaktivierung durch TPP - gemessen an Stoffwechselendprodukten - möglich ist, scheint die TPP-Zugabe auf das Knochenmark in vitro in therapeutischen Dosen nur einen geringeren Effekt zu haben oder mit der gewählten Methode nicht erfaßbar zu sein.

Bei sideroachrestischer Anämie, Morbus Hodgkin und eventuell auch bei Retikulosen und Monozytenleukämie erscheint allerdings ein Therapieversuch mit TPP lohnend, weil eine Proliferationsanregung in der Granulopoese erwartet werden kann. Hingegen muß in der Erythropoese mit einer Reifungshemmung durch TPP gerechnet werden.

G. Zusammenfassung

Da Thiaminpyrophosphat einen günstigen Einfluß auf das Wachstum schnellwachsender Gewebe haben soll, wird die direkte Einwirkung von 2 im physiologischen Bereich liegenden Konzentrationen auf die Hämatopoese im pathologischen Knochenmark geprüft. Es handelt sich um Systemerkrankungen (Retikulose, Monoblastenleukämie, Lymphogranulomatose), carcinomgeschädigtes (Magencarcinom, Prostatacarcinom, Leberzellcarcinom) und sideroachrestisches Knochenmark.

Nach Differentialzählungen bis zu 72 Std. in vitro werden Reifungs- und karyologische Kurven aufgestellt sowie der Mitoseindex und der G/E-Index bestimmt.

Unsere Ergebnisse zeigen, daß TPP-Zusatz nur die Proliferation der Granulopoese der sideroachrestischen Anämie und bei Morbus Hodgkin stimuliert, bei Retikulosen und einer Monozytenleukämie wird allein die Regeneration, wenn auch nicht signifikant, angeregt. Die Granulopoese bei Carcinom-Patienten wird ebensowenig wie die Erythropoese in allen untersuchten Fällen stimuliert. Bei der Erythropoese zeichnet sich vielmehr eine Reifungsstörung durch TPP ab.

H. Literaturverzeichnis

1. ALBRECHT, M. und I. BOLL: Untersuchungen über die Einwirkungen von Colchicin, arseniger Säure, Stickstofflost und Aethylurethan auf menschliches Knochenmark in vitro.
   Ärztl.Wschr. 5, 485 (1950)

2. BALAGHI, M.: Tissue and intercellular distribution of radioactive thiamine in normal and thiamindeficient rats.
   J.Nutr. 89, 127 (1966)

3. BERNDT, H.: Aktuelles über Thiamin.
   Münch.med.Wschr. 1965, 107

4. BOLL, I.: Morphologische Studien zum Verhalten von Knochenmarkszellen - Granuloblasten - Mitose.
   Fol.hämatol., N.V., 3, 58 (1958)

5. BOLL, I.: Granulocytopoese unter normalen und pathologischen Bedingungen.
   Berlin-Heidelberg-New York: Springer 1966

6. BOLL, I. und G. FUCHS: Vereinfachtes Verfahren zur kurzfristigen Kultivierung von menschlichem Knochenmark in vitro.
   Blut 7, 257 (1961)

7. BOLL, I.: Hormonwirkung auf die Proliferationskinetik humaner Knochenmarkskulturen.
   Klin. Wschr. 1968, 402

8. BOLL, I. und G. MERSCH: Morphologische Untersuchungen zur Proliferationskinetik der normalen und pathologischen Erythropoese in vitro.
   Blut 17, 19 (1968)

9. BRIN, M.: Thiamin deficiency and erythrocyte metabolism.
   Amer.J.Clin.Nutr. 12, 107 (1963)

10. BRIN, M.: Erythrocyte as a biopsy tissue for functional evaluation of thiamine adequacy.
Jama 187, 762 (1964)

11. GEIGY, IR: Wissenschaftliche Tabellen 422 (1955)

12. GRASSMANN, B.: The vitamin B_1 requirement of man.
Ernährungsforsch. 9, 212 (1964)

13. GREENGARD, O. und M. GORDON: The cofactor - indicated regulation of apoenzyme levels in animal tissues.
J.Biol.Chem.(USA) 238. 3708 (1963)

14. KIESSLING, KH und LUNDQUIST: Thiamindiphosphat in growing tissues. Pyruvate oxidation in liver mitochondria from young and from thiaminediphosphat deficient adult rats.
Exp.Cell Res. 25, 268 (1961) und 26, 189 (1962)

15. LASFARGUES, E. und F. DE LEO: Importance de certains cofacteurs sur la multiplication et l'ertretien des tissus cultives in vitro.
Compt.Rend.séanc.Soc.Biol. (Paris) 148, 503 (1954)

16. MOESCHLIN, S.: Therapiefibel der Inneren Medizin für Klini und Praxis. 3. Aufl.
Stuttgart: Thieme 1965

17. WEBER, M.: In cytological, histological and histochemical changes in acute thiamin deficiency caused by pyramine.
Z.Ernährungswiss. 4, 253 (1964)

Zum Abschluß dieser Arbeit sei es mir erlaubt, Frau Professor Dr. med. I. Boll für die Anregung zur Bearbeitung des Themas, für die freundliche Unterstützung und die wertvollen Hinweise sowie besonders für das stetige Interesse am Fortgang der Untersuchungen zu danken.

Ebenso gilt mein Dank Herrn Professor Dr. med. Holldack für die mir in seinem Haus zuteil gewordene Hilfe.

Lebenslauf

Am 15. 7. 1944 wurde ich als erstes Kind des Otto-Ernst Schulz - Gutsbesitzer auf Schneidershof - und seiner Ehefrau Dr. med. Hilde Schulz, geb. Daum - Kinderärztin - in Prenzlau/Uckermark geboren. Ich besuchte in Berlin das Evangelische Gymnasium zum Grauen Kloster, wo ich im Februar 1963 die Reifeprüfung ablegte. Die vorklinischen Semester studierte ich in Berlin und Freiburg, die klinischen Semester in Berlin und Kiel. Im Sommersemester 1969 bestand ich an der Kieler Universität die Staatsexamensprüfung. Seit dem 31. Dezember 1969 bin ich mit Dr. med. Klaus Steinbrück verheiratet.